Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor:
Prof. Dr. med. K. Botzenhart
Abteilung: Allgemeine Hygiene und Umwelthygiene
Abteilungsleiter: Prof. Dr. med. K. Botzenhart

ÜBER DIE MÖGLICHKEITEN DER CHEMOPRÄVENTION BÖSARTIGER NEUBILDUNGEN DURCH RETINOIDE
- EINE LITERATURÜBERSICHT -

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

ULRICH ROOS
aus Esslingen / Neckar

1984

ACCADEMIA
DI BELLE
ARTI

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor:
Prof. Dr. med. K. Botzenhart
Abteilung: Allgemeine Hygiene und Umwelthygiene
Abteilungsleiter: Prof. Dr. med. K. Botzenhart

ÜBER DIE MÖGLICHKEITEN DER CHEMOPRÄVENTION BÖSARTIGER NEUBILDUNGEN DURCH RETINOIDE
- EINE LITERATURÜBERSICHT -

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

ULRICH ROOS
aus Esslingen / Neckar

1984

Dekan: Prof.Dr.med. G.Fichtner
1. Berichterstatter: Priv.Doz.Dr.rer.nat. F.Schweinsberg
2. Berichterstatter: Prof.Dr.rer.nat.Dr.med. U.Breyer-Pfaff

Ich danke Herrn Priv.Doz. Dr. F. Schweinsberg
für die gute Beratung und fachliche Diskussion
während der Durchführung der Arbeit.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
2.	VITAMIN A - CHEMIE UND PHYSIOLOGIE	6
	2.1 Begriffe	6
	2.2 Chemie und Biosynthese	6
	2.3 Stoffwechsel	7
	2.4 Bedarf	8
	2.5 Physiologische Bedeutung und Wirkung	9
	2.6 Hypovitaminose	10
	2.7 Hypervitaminose und Teratogenität	10
3.	DIE BEDEUTUNG DER RETINOIDE FÜR DIE EPITHELIALE DIFFERENZIERUNG	12
	3.1 in vivo	12
	3.2 in vitro	13
4.	DIE BEDEUTUNG DER ZELLULÄREN RETINOIDBINDENDEN PROTEINE	17
5.	DIE WIRKUNG VON RETINOIDEN AUF DIE ENTWICKLUNG CHEMISCH INDUZIERTER TUMOREN IM TIERVERSUCH	24
	5.1 Tumoren der Harnblase	24
	5.2 Tumoren der Mamma	33
	5.3 Tumoren des Respirationstrakts	45
	5.4 Tumoren der Haut	52
	5.5 Andere Tumoren	61

Seite

6. KOMBINATION EINER RETINOIDBEHANDLUNG MIT ANDEREN METHODEN DER "KREBSPROPHYLAXE" 65

6.1 Selen 65
6.2 Prolaktinhemmer 68
6.3 Entzündungshemmende Steroide 71

7. DIE ENTWICKLUNG NEUER SYNTHETISCHER RETINOIDE 74

8. THERAPEUTISCHE UND PRÄVENTIVE ANWENDUNG BEIM MENSCHEN 74

9. WIRKUNGEN DER RETINOIDE, DIE ÜBER DAS IMMUNSYSTEM VERMITTELT WERDEN 81

9.1 Stimulation der humoralen Immunantwort durch Retinoide 83
9.2 Stimulation der zellvermittelten Immunantwort 86
9.3 Stimulation der Antitumorimmunreaktion 88

10. EPIDEMIOLOGISCHE ERGEBNISSE 92

10.1 Untersuchung von Ernährungsgewohnheiten 93
10.2 Vitamin A-Blutserumspiegel 102

11. ZUSAMMENFASSUNG 110

12. ANHANG 113

12.1 Abkürzungsverzeichnis 113
12.2 Formeln der erwähnten Retinoide 114

13. LITERATURVERZEICHNIS 116

1. EINLEITUNG

> Krankheit ist die Nachtseite des Lebens,
> eine eher lästige Staatsbürgerschaft.
> Jeder, der geboren wird, besitzt zwei
> Staatsbürgerschaften, eine im Reich der
> Gesunden und eine im Reich der Kranken.
> Und wenn wir alle es auch vorziehen, nur
> den guten Paß zu benutzen, früher oder
> später ist doch jeder von uns gezwungen,
> wenigstens für eine Weile, sich als Bür-
> ger jenes anderen Ortes auszuweisen.
>
> Susan Sontag,
> "Krankheit als Metapher"(241)

Moderne Therapiemethoden haben die Prognose von vielen Krebserkrankungen verbessern können. Für den Patienten aber ist Krebs immer noch "die Krankheit zum Tode" (117). Die Diagnose einer malignen Erkrankung stellt ein Ereignis dar, das das Leben des Kranken einschneidend verändert und oft zu einer schweren seelischen Krise führt, die mit der Infragestellung seiner ganzen Persönlichkeit verbunden ist. Selbst wenn eine zukünftige Verbesserung der Früherkennung und Therapie in noch mehr Fällen zu einer Heilung führen kann, ist es eine Forderung der Humanität, dem Kranken die qualvolle Zeit der Therapie zu ersparen.

Die Ursachen der Krebskrankheit sind prinzipiell bekannt (59), wenn auch die tatsächliche Bedeutung einzelner Faktoren, wie zum Beispiel die Rolle der Psyche (4, 5, 101, 218, 252) noch nicht mit Sicherheit bewertet werden kann. Das Ziel der totalen Beseitigung aller Kanzerogene aus der Umwelt ist zwar wünschenswert, unter den Bedingungen der modernen Industriestaaten aber illusionär. Wenn man darüber hinaus die Schwierigkeiten betrachtet, individuelle Verhaltensveränderungen in der Bevölke-

rung zu erzielen (zum Beispiel Änderung der Rauch-, Trink- und Ernährungsgewohnheiten), haben Methoden, die das Auftreten von Krebs prophylaktisch verhindern können, aber von der Mitarbeit des Einzelnen nicht so stark abhängig sind, mehr als theoretisches Interesse verdient. Dies gilt um so mehr, wenn wie im Falle der Krebskrankheit vor dem Ausbruch der Krankheit eine lange Zeitspanne individuellen Fehlverhaltens liegt.

Genauso wie zur Zeit zum Beispiel in der Schweiz die Verwendung von Fluorid als Kariesprophylaxe zwar umstritten aber erfolgreich durchgeführt wird, ist es vorstellbar, eines Tages in ähnlicher Form eine Krebsprophylaxe durchzuführen, die wirtschaftlich und organisatorisch realisierbar ist. Selbst wenn dahingehende Forschungen nur zu Substanzen führen, bei denen eine allgemeine Anwendung nicht zu verantworten (zum Beispiel wegen der Toxizität und Nebenwirkungen) oder organisatorisch undurchführbar ist (zum Beispiel jahrelange Tabletteneinnahme) könnte es eines Tages sinnvoll sein, zumindest Individuen mit genetischer Disposition, prämalignen Veränderungen oder anderen Risikofaktoren zu behandeln. Abgesehen von den entstehenden ethischen Problemen wird dann natürlich auch die Frage auftreten, ob ein solches Vorgehen nicht dazu führt, daß die Prävention (im Sinne der erwähnten Verhaltensveränderung) vernachlässigt wird.

Eine sehr große Zahl chemisch völlig verschiedener Substanzen, die möglicherweise die chemische Kanzerogenese hemmen können, ist bereits gefunden worden:

- Phenole, Coumarine, Aromatische Isothiocyanate, Flavone und Indole (30, 276, 290)
- Disulfiram und verwandte Verbindungen (30, 276, 290)
- die Vitamine C und E (77, 174, 290), sowie die Substanzklasse der Retinoide

- Spurenelemente und Metalle, wie zum Beispiel Selen, Kupfer und Zink (89, 174, 290)
- pflanzliche Sterole (290)
- entzündungshemmende Steroide (237)
- Hemmstoffe von Proteasen, wie zum Beispiel Leupeptin, Antipain und andere (30, 236).

Alle diese Stoffe unterscheiden sich sehr stark in dem für sie vermuteten Wirkungsmechanismus: einige Stoffe (zum Beispiel Vitamin C und E) verhindern die Bildung kanzerogener Substanzen, andere verhindern die Aktivierung von Pro-Kanzerogenen zu den sogenannten proximalen beziehungsweise ultimalen Kanzerogenen im Stoffwechsel. Weiterhin kann die Entgiftung von Kanzerogenen stimuliert werden, die Interaktion der ultimalen Kanzerogene mit DNA und RNA blockiert werden, sowie der Übergang von der chemisch veränderten Einzelzelle in den wachsenden Tumor. Hier sind Einflüsse auf die Immunabwehr oder auf den Zellzyklus denkbar.

Die meisten chemischen Kanzerogene werden erst über den körpereigenen Stoffwechsel aktiviert. Man nimmt heute allgemein an, daß chemische Kanzerogene entweder selbst elektrophile Agentien sind oder aber durch den Metabolismus des Organismus zu elektrophilen Agentien biotransformiert werden. Die elektrophilen Agentien reagieren mit nukleophilen Zentren in der Zelle und bilden stabile kovalente Bindungen (178, 217, 280). Es besteht die Möglichkeit, daß Stoffe diese Elektrophilen "abfangen", das heißt direkt mit ihnen reagieren, und sie dadurch hindern, mit der DNA oder RNA der Zelle zu reagieren.

Allerdings ist grundsätzlich an die Möglichkeit zu denken, daß modifizierende Wirkungen die Tumorinduktion sowohl verlangsamen als auch beschleunigen können.

Deshalb muß immer der Mechanismus betrachtet werden, wie der Einfluß zustandekommt. Die meisten der erwähnten Möglichkeiten sind aber weit davon entfernt, in der Praxis Anwendung zu finden.

In der vorliegenden Arbeit soll dargestellt werden, was zur Zeit in dieser Hinsicht über die Retinoide bekannt und was von ihnen zu erwarten ist. Die Gruppe der Retinoide bietet sich aus mehreren Gründen als Musterbeispiel für diesen Zweig der Krebsforschung an:

1. Retinoide sind augenblicklich in der ersten Phase der klinischen Erprobung. Einige wenige Untersuchungen haben ihren Einsatz bei Patienten mit malignen Tumoren erprobt.

2. In Deutschland ist derzeit ein Präparat im Handel (A-MULSIN-HOCHKONZENTRAT), das ausdrücklich unter der Indikation "Therapie maligner Tumoren" angeboten wird. Eine kritische Betrachtung ist wünschenswert.

3. Ein Retinoid (13-cis-Retinsäure) wird seit kurzem in der Dermatologie zur Behandlung schwerer Akneformen und anderer Hauterkrankungen eingesetzt (66, 94, 195, 253, 266). Es zeichnet sich ab, daß diese Behandlung in größerem Umfang durchgeführt werden wird. Eine Anwendung beim Morbus Crohn wird derzeit diskutiert (63, 233). Somit stehen klinische Erfahrungen zur Verfügung, die über die Pharmakologie und Toxikologie Auskunft geben können (zum Beispiel 188, 219, 266).

4. Vitamin A ist ein physiologischer Stoff, der für die normale Differenzierung der Epithelien eine sehr wichtige Rolle spielt. Bei den in dieser Hinsicht durchgeführten Untersuchungen handelt es sich um Grundlagenforschung, die für andere Bereiche der Medizin und Biologie Bedeutung erlangen kann (zum Beispiel 141).

5. 80 bis 90 % der beim Menschen auftretenden Karzinome

sind solche epithelialer Gewebe.

6. Es ist eine sehr große Zahl von Tierexperimenten durchgeführt worden, in denen die Wirkung verschiedener Retinoide auf eine Vielzahl von Tumoren untersucht wurde.

7. In den letzten Jahren sind sehr viele synthetische Retinoide mit verbesserten und vielversprechenden Eigenschaften entwickelt worden.

8. Es steht eine relativ große Zahl epidemiologischer Untersuchungen zur Verfügung.

9. Mehrere Autoren fordern sofortige großangelegte Studien am Menschen (192).

2. VITAMIN A - CHEMIE UND PHYSIOLOGIE

2.1 Begriffe

Der Begriff "Retinoide" umfaßt alle natürlich vorkommenden Vitamin A-Verbindungen sowie sämtliche synthetische Derivate. Streng genommen ist "Vitamin A" nur Retinol, das heißt der (in der Natur als Fettsäureester gespeicherte) Alkohol. In der Literatur werden die Begriffe aber überwiegend synonym gebraucht. Aus diesem Grund wird diese Handhabung auch in der vorliegenden Arbeit übernommen, soweit aus dem Zusammenhang nichts anderes hervorgeht.

2.2 Chemie und Biosynthese

Vitamin A ist ein Isoprenderivat mit einem β-Iononring (die Formeln der erwähnten Vitamin A-Verbindungen finden sich im Anhang). Vitamin A entsteht aus Karotin, wobei alle Karotine (und Karotinoide), die einen β-Iononring enthalten, Vorstufen des Vitamin A sein können. Karotinoide sind im Tier- und Pflanzenbereich weit verbreitete gelbe bis rot-violette Farbstoffe, von denen mehr als sechzig Vertreter bekannt sind. Die Bezeichnung Karotin wird als Gruppenname der Karotinoidkohlenwasserstoffe verwendet (73). Das symmetrisch gebaute, zwei terminale β-Ononringe enthaltende β-Karotin liefert bei symmetrischer Spaltung zwei Moleküle Vitamin A, aus anderen Provitaminen (zum Beispiel α- und γ-Karotin) kann zum Teil nur ein Vitamin A-Molekül entstehen.

Die Karotinoide, also die Vorstufen des Vitamin A, werden

ausschließlich von Pflanzen synthetisiert. Demgegenüber findet sich der Vitamin A-Alkohol (= Retinol, = Vitamin A) ausschließlich beim Menschen und bei Tieren, die zur Umwandlung aus Karotin fähig sind. Früchte und Gemüse enthalten in sehr unterschiedlichem Ausmaß Karotinoide. Die Hauptquellen sind Karotten, grüne Gemüse und einige gelbe und rote Früchte.
Vitamin A ist dagegen fast nur in tierischen Nahrungsmitteln zu finden, wobei die Leber, Milch, Butter und Eigelb die wichtigste Rolle spielen (125, 220, 261).

2.3 Stoffwechsel

Karotine (und auch Vitamin A) bilden mit Gallensäuren wasserlösliche Komplexverbindungen und werden so resorbiert. In den Mukosazellen der Darmschleimhaut werden die Karotine durch die dort vorhandene Karotinase in Vitamin A umgewandelt. Andere Organe, beim Menschen vor allem die Leber, scheinen zu diesem Prozeß ebenfalls fähig zu sein. Die Karotinase produziert aber nicht den Vitamin A-Alkohol, sondern den Vitamin A-Aldehyd (= Retinal), der durch die Retinalaldehyd-Reduktase in Retinol umgewandelt werden kann. Als Retinolester kann es über die Chylomikronen im Ductus thoracicus und im Blutkreislauf in Komplexbindung an ein spezifisches α_1-Globulin (= retinolbindendes Protein im Serum) zur Leber transportiert werden.
95 bis 99 % des Vitamin A-Bestandes werden in der Leber als Ester (vor allem Vitamin A-Palmitat) gespeichert und können den Bedarf des Körpers für Monate sichern (9, 125, 261).

Die verschiedenen Formen des bereits aus der Nahrung

aufgenommenen Vitamin A (vor allem Fettsäureester) werden vom Körper in Retinol umgewandelt. Vom (mit der Nahrung) zugeführten Karotin wird nur ein äußerst geringer, aber variabler Teil im menschlichen Darm in Retinol umgewandelt. Je mehr Karotin mit der Nahrung zugeführt wird, desto weniger wird umgewandelt, so daß selbst exzessive Dosen nicht zu einer systemischen Toxizität des entstehenden Retinols führen, wenn nicht gleichzeitig massive Dosen von Vitamin A zugeführt werden. Ein Teil der Karotinoide in der Nahrung wird unverändert aus dem Darm resorbiert, zirkuliert im Körper und wird im Fettgewebe gespeichert. Normalerweise konsumiert der Mensch täglich nur wenige Milligramm Karotin. Dies führt zur Gelbfärbung des menschlichen Fettes, reicht aber nicht aus, um eine Gelbfärbung der Haut zu produzieren. Medizinisch sind keine relevanten Nebenwirkungen der Hyperkarotinose bekannt (81, 125, 192).

2.4 Bedarf

Vitamin A ist in allen Organen nachweisbar. Im Serum beträgt die Konzentration normalerweise 20-50 µg/100 ml, die Konzentration der Karotinoide 100-300 µg/100 ml.

Eine internationale Einheit (IU) des Vitamins entspricht 0,3 µg Retinol oder 0,6 µg reinem β-Karotin.
Bei Kindern bis zu 10 Jahren sollte die tägliche Zufuhr zwischen 2000 und 3300 IU liegen, bei Frauen um 4000 IU, bei Männern um 5000 IU und bei Schwangeren und stillenden Müttern 6000-8000 IU (102, 261).

Diese Dosierungsangaben sind allerdings nicht unumstritten. Die Mindestdosis eines Vitamins oder Spurenelementes

muß nicht unbedingt der optimalen Dosis entsprechen. So halten Seifter u.a. (225) insbesondere die Empfehlungen zur Durchführung von Tierexperimenten für sehr problematisch, vor allem auch im Hinblick auf eine kritische Bewertung der in dieser Arbeit noch besprochenen Arbeiten. Die Empfehlungen für eine normale tägliche Vitamin A-Aufnahme betragen bei Nagetieren 6000 IU/kg Diät, aber diese Angabe bezieht sich auf normale, gesunde und nicht gestreßte Tiere. Infektionen, Fieber und Traumata können vielleicht über noch ungeklärte Mechanismen beim Menschen und beim Versuchstier eine Entleerung der Vitaminspeicher im Körper verursachen. Der Vitamin A-Bedarf tumortragender Tiere ist unbekannt (225).

2.5 Physiologische Bedeutung und Wirkung

Karotine haben an sich keine Vitamin A-Aktivität. Diese erhalten sie erst durch die Umwandlung im Körper.

Vitamin A wurde bekannt wegen seiner Bedeutung beim Sehvorgang, für deren Entdeckung George Wald 1967 mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet wurde. Die Funktion der Stäbchenzellen, die das Dämmerungs- und Nachtsehen ermöglichen, hängt von deren Gehalt an dem lichtempfindlichen Pigment Rhodopsin (= Sehpurpur) ab. Rhodopsin ist eine Kombination aus 11-cis-Retinal und einer Proteinkomponente, dem Opsin (268, 269).

Daneben spielt Vitamin A eine entscheidende Rolle in der Kontrolle der normalen Differenzierung vieler ephithelialer Gewebe. Darauf soll in einem eigenen Abschnitt dieser Arbeit näher eingegangen werden. Vitamin A hat einen direkten Einfluß auf das Wachstum, indem es die Protein-

synthese, die Zelldifferenzierung und die Mitoserate mesenchymaler und epithelialer Gewebe beeinflußt. Darüber hinaus ist es wichtig für die Bildung schleimproduzierender Zellen, die Glykoproteine synthetisieren und Mucopolysaccharide enthalten (125, 274).

2.6 Hypovitaminose

Vitamin A-Mangel führt zur Verminderung des Rhodopsin und dadurch zur verminderten Dunkeladaptation und Nachtblindheit. Mit Ausnahme des Intestinaltraktes kann eine Keratinisierung aller Epithelgewebe beobachtet werden, darunter auch der Cornea des Auges (= Xerophthalmie), wobei dies bis zur Blindheit führen kann. Ursache für einen solchen Vitaminmangel sind Resorptionsstörungen und Leberkrankheiten; die beschriebenen Symptome treten aber erst nach mehreren Monaten auf (125, 261).

2.7 Hypervitaminose und Teratogenität

Die Nebenwirkungen einer Überdosierung von Vitamin A gelten mehr oder weniger für alle Retinoide und sind deshalb im Rahmen dieser Arbeit von besonderem Interesse: es wurden Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Kopf- und Knochenschmerzen (Periostitis), die Entwicklung von trockener Haut, besonders der Lippen- und Nasenschleimhäute, Dermatitis (besonders im Gesicht), Haarausfall, Leberfibrose mit portaler Hypertension und Aszites, sowie Veränderungen der Blutfette beobachtet (66, 188, 261, 266).

Verschiedene Retinoide stehen im Verdacht, teratogene Schäden zu induzieren, was aber bisher nur im Tierversuch gesehen wurde (65, 195, 229, 286). Bei Ratten sind Störungen der Spermiogenese, bei Mäusen vor allem Fehlentwicklungen des ZNS (37, 168, 277) gezeigt worden.

3. Die Bedeutung der Retinoide für die epitheliale Differenzierung

3.1 in vivo

Vitamin A-Mangel führt in Versuchstieren zu einer Umwandlung von schleimsezernierendem prismatischem Epithel in verhornendes Plattenepithel. Hautzellen, die physiologischerweise Keratin produzieren, werden hyperkeratotisch (97, 103, 274). Im gesamten Körper sind zahlreiche epitheliale Gewebe vorhanden, deren normales Wachstum und richtige Differenzierung in hohem Maß von Retinoiden abhängen. Ohne Retinoide ist in diesen Geweben eine normale Differenzierung unmöglich. Die Bedeutung dieser Tatsache wird klar, wenn man bedenkt, daß 80-90 % der primären Krebserkrankungen beim Menschen in epithelialen Geweben auftreten, für die eine solche Abhängigkeit von den Retinoiden in vivo nachgewiesen ist (244), so zum Beispiel in Bronchien und Trachea, Magen und Darm, Uterus, Niere und Blase, sowie Hoden, Prostata, Pankreasgang und Haut.

In einigen Epithelien, wie zum Beispiel in Trachea und Bronchien, treten sogar potentiell maligne Veränderungen (Plattenepithelmetaplasien) auf, wenn Retinoide fehlen (97). Unter Metaplasie wird eine Minderdifferenzierung verstanden, zum Beispiel entstehen bei der Plattenepithelmetaplasie des Bronchialepithels Plattenepitheleinseln in der Schleimhaut, wenn nach längerer Einwirkung chemischer Noxen oder nach Entzündungen bei wiederholter Regeneration aus den Basalzellen nicht differenziertes respiratorisches, sondern Plattenepithel gebildet wird. In der Lunge und im Kolon von Versuchstieren steigert Retinoidmangel die Empfindlichkeit gegenüber chemischen Kanzerogenen (169, 172, 201). Vitamin A-Mangel

ist somit als potentiell kokarzinogene Bedingung zu betrachten.

Es bleibt aber unklar, wo in der Beziehung zwischen der kanzerogenen Aktion und dem Zustand der zellulären Differenzierung der Angriffspunkt der Retinoide zu suchen ist. Eine biochemische Erklärung könnte die Arbeit von Genta u.a. liefern (78). Sie zeigt, daß ein Retinoidmangel zu einer verstärkten Bindung des Kanzerogens Benzo(a)pyren (das heißt eines seiner Metaboliten) an epitheliale DNA aus der Trachea führt. Hier wurde viermal so viel Kanzerogen an die DNA der Tiere gebunden, die kein Vitamin A in der Nahrung erhielten. Die Bindung von Kanzerogen an DNA wird als potentiell kritischer Schritt im kanzerogenen Prozeß betrachtet (178, 217). Für polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, zu denen Benzo(a)pyren gehört, gilt wie für alle sekundären Kanzerogene, daß diese Bindung letztendlich das Ergebnis eines Stoffwechselweges ist, der zu reaktiven kanzerogenen Formen führt.

3.2 in vitro

Die unbedingt notwendige Anwesenheit der Retinoide für die Aufrechterhaltung der normalen Zelldifferenzierung kann direkt in der Organkultur getestet werden (44, 127, 128, 243).
Sporn u.a. (243) verwendeten dazu die Trachea des Hamsters, Clark u.a. (46, 47) die Trachea der Ratte. Die Organkultur ist ein ideales System zur Untersuchung dieser Probleme: die Struktur des Gewebes bleibt unversehrt und das Gewebe kann die Veränderungen zeigen, die sich

auch in vivo abspielen. Gegenüber Zellkulturen ist ihr Vorteil, in größerem Ausmaß Chemikalien metabolisieren zu können (109). Fehlen die Retinoide, verlieren die Kulturen ihr normales Flimmerepithel und die schleimproduzierenden Zellen und erfahren Veränderungen im Sinne einer Plattenepithelmetaplasie mit starker Verhornungstendenz. Nach dem Eintreten dieser Veränderungen kann die Zugabe von Retinoiden binnen 24 Stunden zu einer Umkehr dieser Prozesse führen (47). Clark u.a. (47) konnten sogar nachweisen, daß die alleinige Zugabe von Vitamin A in serumfreiem Medium zu einer Organkultur für diese Wirkung ausreicht. Wichtig sind diese Testmethoden zur Bestimmung der biologischen Aktivität neuer, synthetischer Retinoide geworden. Die Untersuchungen sind so empfindlich, daß sogar die Aktivitäten von Retinoidkonzentrationen im Größenbereich von 300 pg pro ml (das entspricht einer 10^{-9} molaren Lösung) nachgewiesen werden können (243).

Die biologische Bedeutung der Retinoide für das Epithel beschränkt sich aber nicht auf das Problem der normalen, physiologischen Zelldifferenzierung. Eine sehr wichtige Beobachtung ist in Organkulturen der Prostata und Trachea gemacht worden: hyperplastische und anaplastische Veränderungen des Epithels, die durch chemische Kanzerogene verursacht wurden, können durch die Zugabe von Retinoiden wieder beseitigt werden. Anormale, atypische Zellen verschwinden und eine normale zelluläre Morphologie tritt wieder auf. Dies ist sogar dann der Fall, wenn die Retinoide erst gegeben werden, nachdem sich diese Veränderungen bereits voll ausgebildet haben. Eine langfristige Behandlung mit Vitamin A kann die Entstehung solcher Veränderungen ganz verhindern, das heißt präventiv wirken. Für polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe ist dies in beiden Organsystemen gezeigt worden (38, 52, 126, 129, 166); für Nitrosamide, die zu den primären

Kanzerogenen gehören, in der Organkultur der Prostata (39, 40).

Mossmann u.a. (165) berichten eine ähnliche Wirkung auf die Veränderungen, die durch Asbest im Trachealepithel ausgelöst wurden. Asbest führt in der Organkultur zu einer Hyperplasie und Plattenepithelmetaplasie der Hamstertrachea. Letztere Veränderungen, bei denen es sich um potentiell präneoplastische Ereignisse handelt, werden durch Zugabe verschiedener Vitamin A-Verbindungen verhindert.

Damit wurde gezeigt, daß Retinoide die zelluläre Reparatur eines pathologischen Prozesses, der durch ein chemisches Kanzerogen ausgelöst wurde, induzieren können. Diese Entdeckung ist von enormer Bedeutung für eine mögliche Prävention vieler Karzinome (244). Man kann zum Beispiel annehmen, daß sich das bronchogene Plattenepithelkarzinom, die häufigste Form des Lungenkrebs beim Menschen, in einem mehrstufigen Prozeß entwickelt; mit einer extrem langen Latenzzeit und mit zunehmender Metaplasie und zellulärer Atypie (207, 221). Sowohl das respiratorische als auch andere Epithelien können wahrscheinlich zelluläre Schäden, die durch Karzinogene verursacht worden sind, reparieren (194). Da die Latenzzeit bis zur Entwicklung invasiver Karzinome beim Menschen zwanzig Jahre oder mehr betragen kann (207), steht für einen geeigneten "antikanzerogenen Stoff" möglicherweise eine lange Zeit zur Verfügung, in der das Fortschreiten des malignen Transformationsprozesses verhindert werden kann beziehungsweise frühe Veränderungen beseitigt werden können. Die pharmakologische Steigerung der physiologischen Fähigkeit des Epithels, selbst potentiell maligne Veränderungen zu reparieren, ist somit höchst wünschenswert; die dargestellte Wirkung der Retinoide in der Prostataorgankultur in dieser Hinsicht sehr viel-

versprechend. Um praktische Bedeutung zu erlangen, muß sich diese Eigenschaft der Retinoide allerdings in vivo, das heißt im Gesamtorganismus, bestätigen.

Der Vorteil der Ergebnisse aus der Organkultur liegt darin, daß die direkten Wirkungen der Retinoide auf die epithelialen Zellen in einem definierten in vitro-System gezeigt wurden, wobei indirekte Mechanismen, wie zum Beispiel endokrinologische oder immunologische so gut wie keine Rolle spielen. Das bedeutet aber nicht, daß Retinoide in diese Mechanismen nicht eingreifen. In Anbetracht der vorliegenden Ergebnisse ist es aber wahrscheinlich, daß die antikanzerogene Wirkung der Retinoide zumindest teilweise von ihrer physiologischen Fähigkeit abhängt, die Zelldifferenzierung zu kontrollieren.

4. Die Bedeutung der zellulären retinoidbindenden Proteine

Zellen, die von Steroidhormonen beeinflußt werden, besitzen spezifische Rezeptorproteine im Zytoplasma, die einen Komplex mit diesen Hormonen bilden und sie in den Zellkern transportieren, wo der Komplex mit chromosomalen Proteinen reagiert und die Genaktivität beeinflußt (179). In ganz ähnlicher Weise wird die Wirkung der Retinoide auf das Zellgewebe in einen Zusammenhang mit spezifischen intrazellulären Proteinen gebracht (138). Von diesen rezeptorähnlichen Proteinen sind bisher zwei in den verschiedensten Geweben nachgewiesen worden: das retinolbindende Protein (RBP), das all-trans-Retinol, also das natürliche Vitamin A bindet, und das retinsäurebindende Protein (RABP).
Diese intrazellulären Proteine unterscheiden sich grundlegend von Transportproteinen im Serum: mit der Nahrung aufgenommenes Vitamin A wird vom Verdauungsepithel aufgenommen, in die Leber transportiert und als Ester des Retinols gespeichert. An ein spezielles Trägerprotein gebunden, das mit Präalbumin einen Komplex bildet, wird es ins Blut abgegeben (82). Der Retinol-RBP-Präalbumin-Komplex versorgt die entsprechenden Zielzellen mit Retinol, wobei deren Aufnahmebereitschaft vermutlich von speziellen Membranrezeptoren abhängt. Nur das Retinol, nicht das Transportprotein wird in die Zelle abgegeben. Ein kleiner Teil wird zu Retinsäure oxydiert. Sowohl Retinol als auch Retinsäure sind aktive Formen des Vitamins, aber in ihrer Funktion nicht austauschbar (83). Wenn nachfolgend von RBP und RABP die Rede sein wird, werden immer die zellulären Proteine gemeint sein.

Sehr viele gesunde und maligne Gewebe sind untersucht worden und haben äußerst unterschiedliche Verteilungsmuster dieser beiden Proteine gezeigt (42, 181, 182, 183, 184, 186):

- In Dünndarm, Niere, Leber, Lunge und Milz der Ratte wurde nur RBP gefunden.
- Beide Proteine sind in Gehirn, Auge, Haut, Ovar, Hoden und Uterus der Ratte nachgewiesen, allerdings in sehr unterschiedlicher Verteilung.
- Keines der beiden Proteine konnte im Herzen, Skelettmuskel oder Serum der Ratte nachgewiesen werden.
- RABP wurde zum Beispiel in der Haut von Hühnerembryos und Epithel von Rinderaugen gefunden.

Diese Befunde untermauern die These, daß Retinsäure eine andere biologische Funktion als Retinol hat.

- Viele fetale Gewebe der Ratte enthalten beide Proteine. Während RBP in den meisten Geweben des erwachsenen Tieres noch nachgewiesen werden kann, fällt RABP in den meisten Geweben (Lunge, Leber, Niere) auf nicht mehr nachweisbare Mengen ab. Es bleibt aber in den Geschlechtsorganen, Auge und Gehirn nachweisbar.

Die postnatale Verteilung der beiden Proteine scheint somit für jedes Organ und Protein spezifisch zu sein, vielleicht weil sich der Bedarf an Retinoiden, der zur normalen Differenzierung der Gewebe nötig ist, während der Entwicklung dieser Organe verändert.

- Beide Proteine wurden in vielen tierexperimentellen Tumoren gefunden (211, 212), so zum Beispiel in durch MNU chemisch induzierten Mammakarzinomen (156), in durch Viren induzierten Hauptpapillomen beim Kaninchen (199), sowie im transplantablen Kolontumor 26 der Maus (213).
- Untersuchungen beim Menschen haben beide Proteine in Mammakarzinomen und Lungenkarzinomen (108, 156) nachgewiesen, gleichzeitig aber auch im normalen, gesunden Uterus (189).
  Im Urin von Patienten mit Plasmozytom sind auffallend große Mengen von RBP nachgewiesen worden (228).

In Patienten, in deren Lungen- oder Mammakarzinomen RABP gefunden wurde, konnten bei der entsprechenden Untersuchung von nichtmalignen Anteilen derselben Organe keine solchen Proteine nachgewiesen werden (45, 180, 190).
Sani u.a. (214) fanden in 80 % der von ihnen untersuchten menschlichen Kolontumoren RABP, während bei der Untersuchung des Kolons von Patienten, die nur wegen des Verdachts eines solchen Malignoms in der Klinik waren, in 78 % keine solchen Proteine nachgewiesen werden konnten.

Man vermutete deshalb zunächst, aus der Konzentration retinoidbindender Proteine eine Aussage über den Malignitätsgrad von Geweben machen zu können. Schon länger sind fetale Proteine bekannt, die in veränderten Zellen und malignen Geweben vorkommen, in gesunden Geweben dagegen nicht, und deshalb als biochemischer Marker von Tumoren dienen können (zum Beispiel α_1-Fetoprotein). Wenn nur solche Gewebe, die im fetalen Stadium bereits retinoidbindende Proteine besitzen, im malignen Zustand wieder deren Anwesenheit zeigen, ist auch zu erklären, wieso diese Proteine in Tumoren in so unterschiedlichem Ausmaß vorkommen (138). Genau umgekehrte Verhältnisse scheinen aber in Geweben des menschlichen Uterus beziehungsweise der Zervix zu herrschen. Beide bekannten Proteine konnten im Zytosol von normalem, gesundem menschlichen Zervixgewebe nachgewiesen werden. In den meisten pathologischen Gewebeveränderungen (zum Beispiel Dysplasien, Carcinoma in situ) war die Suche dagegen erfolglos (189). Das Problem der Gewebeverteilung der retinoidbindenden Proteine scheint somit sehr komplex zu sein. Beim Vorliegen weiterer Informationen könnte die Untersuchung ihrer Gewebeverteilung aber einen diagnostischen Nutzen bekommen.

Andererseits ist es aber denkbar, daß die unterschiedlichen Konzentrationen dieser Proteine einen Einfluß auf die Empfindlichkeit von Geweben gegenüber kanzerogenen Noxen haben und die Wirkung von Retinoiden auf die Kanzerogenese in diesen Geweben steuern.
Ong u.a. (185) fanden bei Ratten, die mit 1,2-Dimethylhydrazin behandelt worden waren, in den entstandenen Adenokarzinomen von Kolon und Rektum eine signifikant höhere Konzentration von RBP im Vergleich zur umgebenden Schleimhaut. Der RBP-Spiegel im Kolon unbehandelter Ratten lag nur geringfügig unter dem dieser umgebenden Schleimhaut in Tieren mit Tumoren. Der Konzentrationsanstieg des RBP trat also erst mit dem Auftreten des Tumors auf und nicht schon bei der vorhergehenden allgemeinen Hyperplasie der Krypten, die bei der Behandlung mit DMH entsteht. Das RBP im Tumor war dabei fast zu 100 % mit Retinol abgesättigt. Sollte RBP notwendig sein für die biologische Wirkung von Retinol, wäre nicht anzunehmen, daß hierbei eine Gabe von Retinol (oder seines Esters) den Tumor irgendwie beeinflussen könnte, da alle möglichen Bindungstellen bereits abgesättigt wären. In der Tat haben Rogers u.a. (201) gezeigt, daß selbst toxische Dosen von Retinylpalmitat keinen signifikanten Schutz vor der kanzerogenen Wirkung von DMH bieten können. Andererseits haben Newberne und Suphakarn (173) demonstriert, daß 13-cis-Retinsäure die Induktion von Kolontumoren durch DMH hemmen kann. Die 13-cis-Verbindung kann sich an RABP binden, das in geringen Mengen in der Kolonschleimhaut und in Tumoren dieser Region nachgewiesen wurde.

Für diese Ergebnisse sind aber vielleicht nicht die retinoidbindenden Proteine verantwortlich, sondern der unterschiedliche therapeutische Index der beiden Verbindungen, eine unterschiedliche Aktivität der Protein-Retinoid-Komplexe oder auch nur Unterschiede in den

Versuchsbedingungen. Möglicherweise sind RABP-Komplexe grundsätzlich stärker antikarzinogen wirksam als RBP-Komplexe (173).
Es bleibt aber weiterhin offen, welche Bedeutung die retinoidbindenden Proteine für die antikanzerogene Wirkung der Retinoide haben.

Darüber hinaus stellt sich die Frage, bei welchen biologischen Wirkungen der Retinoide die retinoidbindenden Proteine beteiligt sind. Die Wirkungen der Retinoide auf das Wachstum, die Kanzerogenese und das Tumorwachstum sind von vielfältiger Natur. Alle Derivate der Retinsäure haben in vitro im Test sehr unterschiedliche Bindungsaffinitäten zu den retinoidbindenden Proteinen (243). Entsprechend kann man in anderen Testsystemen die relative Potenz dieser Derivate miteinander vergleichen, biologische Veränderungen auszulösen.
Bei einer vergleichbaren Hierarchie der Bindungsaffinitäten einerseits und der biologischen Wirkungsstärken andererseits kann man davon ausgehen, daß die beobachtete Wirkung über retinoidbindende Proteine vermittelt sein könnte (43, 260).
Für die folgenden Wirkungen der Retinoide ist dies zum Beispiel gezeigt worden:

- Anstieg des DNA-, RNA- und Proteingehalts in Zellkulturen aus Mäuseepidermis (243, 245).
- Hemmung des Anstiegs der Ornithindecarboxylaseaktivität in der Mäusehaut nach der Behandlung mit einem Tumorpromotor (263; siehe 5.4).
- Umkehr der Meta- und Hyperplasie, die in Organkulturen der Mäuseprostata durch die Behandlung mit Methylcholanthren verursacht wird (129).
- Umkehr der Plattenepithelmetaplasie, die in Organkulturen der Hamstertrachea einem Vitamin A-Mangel folgt (243).
- Hemmung der Proliferation von S91-Melanomzellen in der Kultur (137).

- Aufhebung der Wachstumshemmung von Ratten, die an Vitamin A-Mangel leiden (138).
- Regression von Papillomen und Karzinomen, die durch chemische Kanzerogene auf der Mäusehaut induziert wurden (138).
- Stimulierung der Differenzierung embryonaler Karzinomzellen in der Kultur (112). Es handelt sich dabei um frühe, undifferenzierte, embryoähnliche Zellen, die in Teratokarzinomen vorkommen.

Obwohl die Hoffnungen, die man in die Erforschung der retinoidbindenden Proteine gesetzt hat, zum Teil enttäuscht wurden, sind viele wichtige Informationen über den möglichen Wirkungsmechanismus der Retinoide gewonnen worden. Auch ist nicht auszuschließen, daß die retinoidbindenden Proteine eines Tages als chemische Marker in der Diagnostik maligner Tumoren verwendet werden können. Vielleicht wird es dann auch möglich werden, aus dem Nachweis retinoidbindender Proteine in einem Tumor zu entscheiden, ob dieser Tumor auf eine Behandlung mit Retinoiden anspricht, was bisher noch nicht möglich ist (139). Aus einer weiteren Erforschung dieser Probleme könnten sich wichtige Konsequenzen für die klinische Medizin ergeben. In diesem Zusammenhang seien nur die Fortschritte erwähnt, die sich aus der Bestimmung von Steroidrezeptoren in Mammakarzinomen ergeben haben: die Entdeckung und Charakterisierung dieser Hormonrezeptoren hat dem Kliniker die Möglichkeit gegeben, den Erfolg einer Hormontherapie im voraus mit größerer Sicherheit abschätzen zu können (67, 124, 153). Dadurch kann vermieden werden, daß durch die Hormontherapie - wenn sie versagt - Zeit verloren wird für die kombinierte zytostatische Therapie. Die Östrogen- und Progesteronrezeptorbestimmung hat darüber hinaus für die Stellung der Prognose Bedeutung erlangt: hormon-abhängige Tumoren (etwa 30 % aller Mammakarzinome) sind prognostisch günstiger.

Zur Zeit laufende Untersuchungen sollen Aufschluß geben, inwieweit durch die Bestimmung der Steroidrezeptoren auf die Ansprechbarkeit gegenüber einer Chemotherapie geschlossen werden kann (124).
Ähnliche Ergebnisse werden durch die Bestimmung von Schilddrüsenhormonrezeptoren in Mammakarzinomen erhofft (35).

5. Die Wirkung von Retinoiden auf die Entwicklung chemisch induzierter Tumoren im Tierversuch

5.1 Tumoren der Harnblase

Blasenepithel benötigt wie andere Epithelien Retinoide, um die normale zelluläre Differenzierung erhalten zu können. Die Wirkung einer Retinoidbehandlung auf die Entstehung von Tumoren der Harnblase ist sehr ausführlich untersucht worden. Da in mehreren Arbeiten hauptsächlich die qualitativen Auswirkungen einer solchen Behandlung beschrieben werden, zunächst einige Bemerkungen zur Histologie beim Menschen:

95 % der Harnblasentumoren gehen vom Urothel aus. Die weitaus häufigste gutartige Geschwulst ist das Papillom. Papillome mit Verbreiterung des Urothels, vermehrten Mitosen und Epithelatypien werden bereits als oberflächliche Harnblasenkarzinome aufgefaßt, auch wenn sie noch nicht infiltrieren (16).

Bei den malignen Tumoren überwiegen die papillären Karzinome, die eingeteilt werden nach dem Grad ihrer Entdifferenzierung (grading) und dem Grad ihrer Ausbreitung (staging), wobei beide Kriterien eng miteinander korreliert sind (29).
Diese hoch oder niedrig differenzierten Karzinome des Urothels (= Übergangsepithel der harnableitenden Wege) werden synonym auch Übergangsepithelkarzinome (175) oder Übergangszellkarzinome (122) genannt. Durch Metaplasie können die höher malignen, aber selteneren Plattenepithelkarzinome (oft mit typischer Keratinproduktion) entstehen.
Ausgesprochen selten sind die Adenokarzinome und die völlig entdifferenzierten anaplastischen Karzinome (29, 122, 175).

Cohen u.a. (50) untersuchten 1976 den Zusammenhang zwischen dem Mangel an Vitamin A und der Entwicklung chemisch induzierter Karzinome im Blasenepithel der Ratte. Sie arbeiteten mit weiblichen Sprague-Dawley-Ratten, die das chemische Kanzerogen N-(4-(5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl)-formamid (FANFT) in einer Dosis von 1 mg pro g Diät erhielten. Dabei entwickelten diese Tiere vor allem Übergangs- oder Plattenepithelkarzinome oder Zwischenformen dieser Tumoren. Um die Auswirkungen eines Vitamin A-Mangels auf die Entwicklung von Blasenkrebs feststellen zu können, wurde eine Gruppe der Versuchstiere Vitamin A-frei ernährt. Der Vitamin A-Mangel allein bewirkte die Entwicklung von verhornenden Plattenepithelmetaplasien im Urothel, die zu einem nicht geringen Teil mit einer Zystitis, Urethritis oder Pyelonephritis kombiniert waren. Die Kombination der Vitaminmangeldiät mit der Gabe von FANFT führte zu einer signifikanten Zunahme von Zahl und Malignitätsgrad der Neubildungen. Gerade im Vergleich zu den Tieren, die nur mit dem Nitrofuranderivat behandelt wurden, zeigte sich eine wesentlich höhere Zahl von Tumoren, ein früheres Endringen in die Submukosa und ein Übergreifen auf die Ureter und die Nierenbecken.
Der Vitamin A-Mangel beschleunigte also die Entwicklung maligner Neubildungen. Nicht auszuschließen ist allerdings, daß es sich um einen relativ unspezifischen Mechanismus handelt, das heißt, daß die Wirkung des Vitaminmangels nur eine Folge der starken Entzündung ist, die ausgelöst wurde.

Nach dem Vorliegen dieser Ergebnisse war es naheliegend, in einem weiteren Versuch zu prüfen, ob hohe Dosen von Vitamin A die Entwicklung von Blasenkrebs verhüten können (ebenfalls 50). Dies war jedoch nicht der Fall. Für die fehlende Wirkung der hochdosierten Vitamin A-Behandlung (ungefähr 1000 IU Vitamin A-Palmitat pro g Diät) dürften in dieser Untersuchung aber vor allem pharmako-

kinetische Probleme verantwortlich gewesen sein. Zum einen waren die Konzentrationen in den betroffenen Geweben vermutlich nicht hoch genug: die Vitamin A-Konzentrationen waren zum Beispiel im Serum, in den Nieren und in der Blase nur 2 bis 3 mal so hoch wie in Ratten mit "normalen" Vitamin A-Konzentrationen. Außerdem wurde Vitamin A-Palmitat verwendet, ein Vitamin A-Ester, der im Gegensatz zu anderen Vitamin A - Derivaten in der Leber gespeichert und im Blut durch Transportproteine gebunden wird, das heißt eine gänzlich andere Gewebeverteilung zeigt als andere Retinoide (246). Keinesfalls kann auch ausgeschlossen werden, daß die Dosis des Kanzerogens exzessiv war, so daß jeglicher Effekt einer Vitamin A-Behandlung verdeckt wurde. Bei Berücksichtigung dieser Überlegungen ist die fehlende präventive Wirkung von Vitamin A in dieser Untersuchung nicht überraschend.

Ein Jahr nach der Untersuchung von Cohen u.a. erschien eine Arbeit von Squire u.a. (246 und 249, in letzterer vor allem histopathologische Ergebnisse), in der die Wirkung einer Behandlung mit 13-cis-Retinsäure untersucht wurde. Die Autoren entwickelten darin eine objektive Methode der histopathologischen Bewertung, die es erlaubt, quantitative Vergleiche und statistische Analysen auch dann zu machen, wenn nur eine teilweise Hemmung der Krebsentstehung durch Retinoide auftritt. Weibliche Wistar/Lewis-Ratten erhielten pro Tier eine Gesamtdosis von 4,5 mg N-Nitrosomethylharnstoff (MNU) durch Instillationen in die Blase. Das in diesem Versuch verwendete Retinoid wurde über 7 Monate hinweg bis zum Ende des Versuchs in einer Dosis von 120 beziehungsweise 300 mg pro kg Diät gegeben. Der Vitaminzusatz begann bei einem Teil der Tiere gleichzeitig mit der Kanzerogengabe, bei einem anderen erst nach Abschluß der Kanzerogengabe. Nach den Ergebnissen dieser

Untersuchung hat 13-cis-Retinsäure einen hemmenden Effekt auf die Entwicklung von Neubildungen im Blasenepithel der Ratte, der sich hier vor allem bei der histopathologischen Bewertung der eingetretenen Veränderungen zeigte: die Gabe des Retinoids hemmte sowohl die Entwicklung der häufiger vorkommenden Übergangszellkarzinome und -papillome als auch die Entwicklung der selteneren Plattenepithelkarzinome der Harnblase.

Interessant ist, daß diese Wirkung des Retinoids auch dann eintrat, wenn die Behandlung mit 13-cis-Retinsäure erst begonnen wurde, wenn die Gabe des Kanzerogens bereits abgeschlossen war. Da die biologische Halbwertszeit von MNU nur wenige Stunden beträgt, kann das Retinoid nicht mehr auf die Initiierung der Tumoren gewirkt haben (da zu Beginn der Retinoidbehandlung kein freies MNU beziehungsweise daraus entstehende kanzerogene Stoffwechselprodukte mehr da waren). Bei der Bewertung der Ergebnisse dieser Untersuchung muß betont werden, daß der Effekt des Retinoids nicht auf mögliche toxische Wirkungen einer Überdosierung von 13-cis-Retinsäure zurückzuführen ist. Zeichen einer Überdosierung wurden nicht beobachtet und die Durchschnittsgewichte der Ratten, die das Retinoid erhalten hatten, entsprachen denen der Kontrollgruppe. 13-cis-Retinsäure zeichnet sich gerade durch seine niedrige Toxizität aus (116).

In der vorhergehenden Untersuchung, in der bei weiblichen Wistar/Lewis-Ratten durch die Gabe von MNU Blasenkrebs ausgelöst wurde, waren 30 bis 40 % der entstehenden Veränderungen Plattenepithelkarzinome.
Da beim Menschen der Anteil dieses Karzinoms wesentlich geringer ist, wollten Grubbs u.a. (91) in einem anderen Versuch, in dem die entstehenden Tumoren vor allem Übergangszelltumoren sein sollten, ebenfalls eine mögliche Wirkung der Anwendung von Retinoiden untersuchen.

Zu diesem Zweck gaben sie männlichen Fischer-Ratten 12 Einzeldosen von 200 mg N-Nitroso-(4-hydroxy-n-butyl)-butylamin (OH-BBN) über einen Zeitraum von 6 Wochen verteilt jeweils per Magensonde. Eine Woche später begann bei einem Teil der Ratten die Behandlung mit 13-cis-Retinsäure, die in einer Konzentration von 240 mg pro kg Diät bis zur Tötung (und histologischen Untersuchung) der Tiere 6 Monate später gegeben wurde. Wie geplant entwickelten die Tiere überwiegend Übergangszellkarzinome, deren Zahl und Malignitätsgrad durch die Retinoidbehandlung stark gesenkt werden konnte. So hatten in der Gruppe, die mit OH-BBN behandelt worden war, 9 von 22 Tieren Übergangszellkarzinome von hohem Malignitätsgrad, in der Vergleichsgruppe, die zusätzlich das Retinoid in der Diät erhalten hatte, nur 4 von 21 Tieren. Darüber hinaus sank die Gesamtzahl aller proliferativen Veränderungen des Blasenepithels, einschließlich der entstehenden Karzinome, durch die Behandlung mit dem Retinoid auf die Hälfte. Wie in der Untersuchung von Squire u.a. (249) war keine toxische Wirkung von 13-cis-Retinsäure zu beobachten.

Die Ergebnisse, die an Ratten erzielt wurden, waren statistisch signifikant. So wollten Becci u.a. (10) durch die Untersuchung einer anderen Tierart diese Resultate auf eine breitere Basis stellen. Sie behandelten männliche C57BL/6-Mäuse mit OH-BBN, das die Tiere entweder in einer niedrigen (insgesamt 90 mg) oder in einer hohen Dosis (insgesamt 140 mg) über mehrere Wochen verteilt per Magensonde erhielten. Eine Folge der veränderten Versuchsanordnung war der dabei erzielte viel größere Malignitätsgrad der entstandenen Tumoren im Vergleich zu früheren Untersuchungen. Die Experimente mit Ratten zeigten zum Beispiel nur eine subepitheliale Invasion der Karzinome, während die in der Maus von hochinvasiver Natur waren. Die lang dauernde

(6 Mon.) orale Gabe von 13-cis-Retinsäure (200 mg pro kg Diät) bewirkte bei den 19 Tieren, die das Kanzerogen in der niedrigen Dosis erhalten hatten, daß kein einziges Plattenepithel- oder Übergangszellkarzinom auftrat. In der Kontrollgruppe, die nur das Kanzerogen erhalten hatte, erkrankten 8 von 24 Tieren (33 %) an mindestens einem dieser Karzinome. Unter diesen Umständen hat also die Behandlung mit dem Retinoid das Auftreten von Blasenkrebs gänzlich verhindert.

Selbst in der Gruppe, die das Kanzerogen in der hohen Dosis erhalten hatte, zeigten sich bei den mit dem Retinoid behandelten Tieren wesentlich weniger Karzinome sowie nichtinvasive Papillome: der Anteil der Tiere mit Übergangszell- oder Plattenepithelkarzinomen betrug zum Beispiel unter Retinoidbehandlung 28 % gegenüber 45 % bei der Kontrollgruppe.
Da auch in dieser Untersuchung erst am 7. Tag nach der letzten Anwendung des Kanzerogens mit der Retinoidbehandlung begonnen wurde, dürfte eine Wirkung des Retinoids auf die Initiierung der Kanzerogenese ausgeschlossen sein.

In den früheren Studien (zum Beispiel 91, 249) zeigte 13-cis-Retinsäure, was die Wirkung auf chemisch verursachten Blasenkrebs bei Ratten betraf, überwiegend eine qualitative Wirkung, das heißt zwar eine statistisch signifikante Senkung des Malignitätsgrads, aber keine signifikante Abnahme der Karzinomhäufigkeit. Die Tatsache, daß in der vorliegenden Untersuchung die Gabe eines Retinoids ein Auftreten von Karzinomen vollständig verhindern konnte, ist in Anbetracht dessen, daß keine Zeichen einer toxischen Wirkung zu beobachten waren, von um so größerer Bedeutung.

Sollte eine therapeutische Anwendung von Retinoiden beim Menschen eines Tages möglich sein, bleibt immer noch die

Frage offen, ob es realisierbar ist, in großem Umfang (das heißt bei einem großen Personenkreis über viele Jahre hinweg) "chemopräventive" Stoffe zur Anwendung zu bringen. Abgesehen von der besten Vorbeugung, der Eliminierung kanzerogener Substanzen aus der Umwelt (siehe Einleitung), scheint es wichtiger zu sein, Frühstadien und Risikofaktoren zu erkennen, um dann bei gefährdeten Individuen gezielt einzugreifen. Im Normalfall ist es beim Menschen so, daß zwischen dem kanzerogenen Ereignis und dem Manifestwerden des Tumors eine lange Zeit vergeht. Dies führt konsequenterweise zu der Frage, ob eine Retinoidbehandlung auch dann noch wirksam ist, wenn die Aufnahme des kanzerogenen Stoffes schon einige Zeit zurückliegt und die Initiierung eines Tumors praktisch schon beendet ist.

Die schon beschriebenen Arbeiten von Squire u.a. (246) und Becci u.a. (10) haben gezeigt, daß das jeweils verwandte Retinoid vermutlich nicht auf die Initiierung gewirkt hat. Allerdings war in beiden Untersuchungen der Zeitraum zwischen der letzten Anwendung des Kanzerogens und dem Beginn der Retinoidbehandlung sehr kurz, nämlich nur 7 Tage. In einer weiteren Untersuchung prüften Becci u.a. (11) deshalb, wie sich eine Verzögerung des Beginns der Retinoidbehandlung auswirken würde. Fischer-344-Ratten erhielten über einen Zeitraum von 6 Wochen verteilt unterschiedliche Dosen (insgesamt 1200, 1800 oder 2400 mg) von OH-BBN durch die Magensonde. Eine, fünf oder neun Wochen nach der jeweils letzten Einzelgabe des Kanzerogens begann in den verschiedenen Gruppen die Behandlung mit 13-cis-Retinsäure (240 mg pro kg Diät).

Die Retinoidgabe verringerte sowohl die durchschnittliche Zahl und den Malignitätsgrad der Übergangszellkarzinome als auch das Ausmaß der Hyperplasien und zellulären Atypie, unabhängig davon, ob die Tiere die kleine,

mittlere oder hohe Dosis des Kanzerogens erhalten hatten. Bei Beendigung der Studie nach einem Jahr zeigten sich in den untersuchten histologischen Kriterien keine signifikanten Unterschiede, für die die Verzögerung des Beginns der Retinoidbehandlung hätte verantwortlich gemacht werden können. Selbst die neunwöchige Verzögerung des Beginns der Retinoidbehandlung verminderte hier nicht die Fähigkeit der 13-cis-Retinsäure, die Entwicklung von Blasenkrebs zu hemmen. Unter diesen Umständen könnte eine Retinoidbehandlung auch jenen Individuen zugute kommen, bei denen Blasenveränderungen in einem frühen Stadium entdeckt wurden und bei denen eine hohe Wahrscheinlichkeit besteht, an Krebs zu erkranken.
Eine Einschränkung muß allerdings bei der Bewertung dieses Experiments gemacht werden: bei den Tieren, die erst nach neun Wochen mit dem Retinoid behandelt wurden, konnten zu diesem Zeitpunkt histologisch noch keine präkanzerogenen Veränderungen gesehen werden. Es bleibt also offen, ob es in der Entwicklung des Blasenkarzinoms eine Schwelle gibt, bei deren Erreichen 13-cis-Retinsäure nicht mehr effektiv wirken kann.

Entsprechend den schon beschriebenen Problemen, die sich bei der Untersuchung an Ratten ergaben (91), war auch die Versuchsdurchführung von Becci u.a. (10), bei der in C57BL/6-Mäusen durch die Gabe von OH-BBN Übergangszell- und Plattenepithelkarzinome ausgelöst wurden, nicht befriedigend, da hier sogar 60 % der entstehenden Tumoren Plattenepithelkarzinome waren.
Durch die Verwendung einer neuen Mäusezucht wollten Becci u.a. (12, mit ausführlicher Literaturübersicht über die Histopathologie der Blasentumoren der Maus) ein Tiermodell entwickeln, das überwiegend Karzinome vom Übergangszelltyp liefert und somit mehr der Situation beim Menschen entspricht. Die Kreuzung männlicher C57BL/6- mit DBA/2 F1-Mäusen, die daraufhin B6D2F1 ge-

nannt wurden, führte zu Tieren, die auf die Gabe von OH-BBN (Gesamtdosis von 80 mg beziehungsweise 180 mg durch die Magensonde) innerhalb von sechs Monaten mit der Entwicklung hochaggressiver Blasenkarzinome reagierten: die Tumoren zeigten histologisch sämtliche Differenzierungsgrade. Neben reinen Übergangszellkarzinomen fanden sich Mischtumoren mit Plattenepithelmetaplasien oder adenoiden Strukturen. 67 % der Tumoren durchbrachen die Muskulatur der Harnblase.
Nun wurde die Wirkung einer Anwendung von 13-cis-Retinsäure auf die Entstehung dieser sehr invasiven Karzinome untersucht.
OH-BBN wurde entweder in der genannten hohen oder niedrigen Dosierung über neun Wochen verteilt gegeben. Dabei zeigte sich nach sechs Monaten so gut wie kein Unterschied in der Zahl der dadurch an Krebs erkrankten Tiere (43 beziehungsweise 41 %). Die zusätzliche, lang dauernde Behandlung (beginnend am siebten Tag nach der letzten Gabe des Kanzerogens) mit 13-cis-Retinsäure in einer Konzentration von 150 beziehungsweise 200 mg pro kg Diät verringerte die Zahl der Tiere mit malignen Tumoren signifikant. Das Ausmaß dieser Wirkung war der Retinoidkonzentration in der Diät proportional. Unter der hohen Dosis des Retinoids entwickelten 12 der 54 Tiere (22 %), die OH-BBN hochdosiert erhalten haben, Karzinome. Zeichen einer Toxizität des Retinoids waren nicht zu beobachten.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen wenig Zweifel daran, daß unter den Retinoiden zumindest 13-cis-Retinsäure eine merkliche "chemopräventive" Wirkung gegen experimentell induzierten Harnblasenkrebs hat. Die einzige Arbeit, die diese Wirkung einer Retinoidbehandlung nicht bestätigt hat (50), spricht aus den schon erläuterten pharmakokinetischen Überlegungen nicht gegen diese Schlußfolgerung. Besonders eindrucksvoll sind

die Ergebnisse, bei denen im Tierversuch die Entstehung solcher Karzinome beeinflußt werden konnte, die morphologisch und histopathologisch denen beim Menschen entsprachen (12, 91). In einer Untersuchung ist durch die Behandlung mit 13-cis-Retinsäure eine Entwicklung von Karzinomen sogar vollständig verhindert worden (10).

5.2 Mammatumoren

Moon, Grubbs und Sporn (163) untersuchten die Wirkung von Vitamin A-Acetat an weiblichen Sprague-Dawley-Ratten, bei denen durch eine einmalige Gabe von 2,5, 5 oder 15 mg 7,12-Dimethylbenz(a)anthracen (DMBA) per Magensonde die Entwicklung von Mammatumoren ausgelöst wurde. Die einzelnen Versuchsgruppen bestanden aus jeweils 50 Tieren, die nach einer Versuchsdauer von sechs Monaten getötet wurden. Die Gabe von 1 mg Vitamin A-Acetat täglich (beginnend am siebten Tag nach der Gabe des Kanzerogens) in der Diät führte zwar zu einer Senkung der Tumorzahl im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollgruppen, die kein Retinoid erhielten, diese Senkung war jedoch statistisch nicht signifikant: bei der Dosis von 5 mg DMBA sank der prozentuale Anteil der Ratten mit Mammakarzinomen durch die Retinoidbehandlung von 46 % auf 36 %. Die Behandlung mit einer Dosis von täglich 2,5 mg des Retinoids hemmte dagegen signifikant die Entwicklung von Adenokarzinomen und gutartigen Tumoren der Mamma: in der Gruppe, die mit 5 mg DMBA behandelt worden war, wirkte diese Behandlung am ausgeprägtesten (der prozentuale Anteil der Tiere mit Karzinom sank von 46 auf 22 %). Die Tatsache, daß in der Gruppe, die mit 2,5 mg DMBA behandelt worden war, keine signifi-

kante Wirkung des Retinoids festzustellen war, führen die Autoren auf die geringe Zahl von Tieren zurück, die in dieser Gruppe ein Karzinom entwickelt haben (nur 15 von 148). Weder Körpergewicht, Histologie der Leber, noch die Leberfunktionsprüfungen unterschieden sich in den mit Vitamin A-Acetat behandelten Tieren von den Kontrolltieren. Die Unterdrückung der Mammatumorentstehung durch die Retinoidbehandlung ist somit nicht Folge einer Hemmung des Tumorwachstums aufgrund etwaiger toxischer Wirkungen des Retinoids. Veränderungen des Östrogenspiegels können das Auftreten von Tumoren, die durch chemische Kanzerogene induziert werden, beeinflussen (133). Die Autoren diskutieren, ob Retinoide über eine Beeinflussung dieses Hormons wirken. Leider wurden die Östrogenspiegel in dieser Arbeit nicht untersucht. Da sich die hormonellen Zyklen der Ratten aber in den verschiedenen Gruppen nicht unterschieden, ist ein solcher Mechanismus sehr unwahrscheinlich.

Neuere Untersuchungen (152, 282; siehe Abschnitt 6.2) brachten aber weitere Hinweise, die sehr deutlich für eine Beeinflussung von Mammatumoren durch hypophysäre und ovarielle Hormone sprachen. Thompson u.a. (259) wollten diese Frage zumindest für das obenbeschriebene Versuchsmodell von Moon u.a. klären.
Wieder wurde bei weiblichen Sprague-Dawley-Ratten durch eine einmalige orale Gabe von 15 mg DMBA Mammakrebs induziert. Sobald bei einem Tier ein Tumor tastbar war, wurden beide Ovarien entfernt. Daraufhin zeigte sich, daß bei einem Teil der Tiere die Größe der Tumoren zurückging, andere sich aber weiter vergrößerten. Tumoren, deren Größe innerhalb von 14 Tagen nach der Kastration um mehr als 50 % zurückging, wurden als von den ovariellen Hormonen abhängig betrachtet. Ein Teil der Tiere hatte (beginnend am siebten Tag nach der Gabe von DMBA) 328 mg Vitamin A-Acetat pro kg Diät erhalten.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse dieser Untersuchung ergab, daß das Retinoid die Entstehung hormonabhängiger und hormonunabhängiger Tumoren in gleicher Weise wirkungsvoll hemmte. In einem anderen Experiment wurde ein Teil der Tiere sehr früh (am siebten Tag nach der Gabe von DMBA) kastriert, ein anderer Teil überhaupt nicht. Auch hier hemmte die Behandlung mit dem Retinoid das Auftreten von Mammatumoren; ob die Tiere kastriert waren oder nicht, spielte dabei keine Rolle.

Thompson u.a. (256) untersuchten 1979, ob es notwendig ist, Vitamin A-Acetat längerdauernd und kontinuierlich zu geben, um die beschriebene Wirkung dieses Retinoids auf die Entstehung chemisch induzierter Mammatumoren aufrecht erhalten zu können, das heißt, ob es möglich ist, die zeitliche Dauer der Vitamin A-Gabe zu reduzieren. Weibliche Sprague-Dawley-Ratten erhielten im Alter von 50 und 57 Tagen jeweils eine i.v. Injektion von 50 mg MNU pro kg Körpergewicht. Beginnend am 10. Tag nach der ersten Infusion wurde ein Teil der Tiere 50 Tage lang mit 323 mg Vitamin A-Acetat pro kg Diät behandelt. Diese Retinoidbehandlung verlängerte die Latenzzeit bis zum Auftreten der ersten Tumoren und verminderte die durchschnittliche Anzahl der malignen Tumoren im Vergleich zu den Kontrolltieren, was aufgrund früherer Untersuchungen zu erwarten war.

Zu diesem Zeitpunkt (60. Tag) wurden nun die Tiere, die mit dem Retinoid behandelt worden waren, weiter unterteilt: die 28 Tiere, die (trotz der Behandlung mit dem Retinoid) Tumoren entwickelt hatten, wurden nun von den 48 Tieren getrennt, die noch keine Neubildungen zeigten. Jeweils ein Teil der gesunden und ein Teil der kranken Tiere wurde für weitere 122 Tage mit dem Retinoid in der oben beschriebenen Dosis behandelt. Für die Ratten, die am 60. Tag bereits Tumoren trugen, spiel-

te es dabei erstaunlicherweise für die Entwicklung weiterer Tumoren keine Rolle, ob sie nun für weitere 122 Tage das Retinoid erhalten hatten oder nicht: es traten in gleichem Ausmaß zusätzliche Tumoren auf.

Im Gegensatz dazu führte die Retinoidbehandlung bei den (am 60. Tag) tumorfreien Tieren zu einer ganz entscheidenden Verlängerung der Latenzzeit bis zum Auftreten der ersten Tumoren und zu einer deutlichen Senkung der durchschnittlichen Tumorzahl pro Tier (6,2 bei unbehandelten Tieren gegenüber 2,7 bei den Tieren, die vom 60. Tag an für weitere 122 Tage das Retinoid erhielten). In Anbetracht dieser Ergebnisse muß man annehmen, daß ein Teil der Tiere (die Gruppe, die am 60. Tag noch tumorfrei war) empfindlicher auf die Retinoidbehandlung reagiert hat. Doch selbst diese "sensiblen" Tiere entwickelten nach Absetzen des Retinoids in kürzester Zeit Tumoren. Das heißt, daß eine kontinuierliche, längerdauernde Anwendung von Vitamin A-Acetat notwendig ist, um den hemmenden Effekt der Retinoidbehandlung auf die Entwicklung des Brustkrebses bei diesen Tieren unter diesen Umständen aufrechtzuerhalten. Es ist nicht bekannt, ob eine intermittierende Retinoidbehandlung zur Erzielung der gleichen präventiven Wirkung genügen würde. Die Autoren betonen aber die Wichtigkeit eines konstanten Blutspiegels des Retinoids über eine längere Zeit, der vor allem durch die tägliche Gabe in der Diät erzielt werden kann. Ihrer Meinung nach sind die früher entgegengesetzten Ergebnisse auf einen anderen Behandlungsmodus zurückzuführen: so haben Schmähl u.a. (216), die einen Einfluß von Vitamin A-Palmitat auf durch DMBA induzierte Mammakarzinome verneint haben, das Retinoid einmal wöchentlich durch die Magensonde gegeben.

Für die unterschiedliche Empfindlichkeit der Ratten gegenüber einer Behandlung mit Retinoiden geben die Autoren zwei mögliche Erklärungen:

1. Das Vorhandensein eines Tumors prädisponiert zu weiteren Tumoren.
2. Verschiedene Tiere unterscheiden sich im Retinoidmetabolismus, wobei vielleicht retinoidbindende Proteine und Unterschiede in deren Vorhandensein eine Rolle spielen.

Auch aus den Ergebnissen dieser Untersuchung lassen sich gewisse Rückschlüsse über den Wirkungszeitpunkt der Retinoide ziehen. Die chemische Kanzerogenese in der Brustdrüse besteht, wie allgemein geltend, vermutlich aus zwei Phasen:

- der frühen Phase der Aktivierung des Kanzerogens und dessen Wechselwirkung mit der Zelle (beziehungsweise der DNA und RNA)
- die späte Phase des Wachstums und der Entwicklung tastbarer Tumoren aus diesen veränderten Zellen.

Hätte die Retinoidbehandlung zu einer Umkehr oder Beseitigung früher Veränderungen (beziehungsweise Schäden) geführt, hätte man erwarten können, daß die Tiere, die unter Retinoidbehandlung bis zum 60. Tag noch keine Tumoren entwickelt hatten, auch danach keine Tumoren mehr entwickelt hätten. Wahrscheinlich verhindert Vitamin A-Acetat in der Phase der Promotion das Fortschreiten, die Weiterentwicklung früher neoplastischer Veränderungen.

Diese Wirkung der Retinoide in der späten Phase ist zumindest für die durch DMBA induzierte Kanzerogenese in mehreren Untersuchungen gezeigt worden (90, 163, 259). Dabei wurde das Retinoid zumeist erst ab dem siebten Tag nach dem krebsauslösenden Ereignis, der Gabe einer

Einzeldosis DMBA, fortlaufend über einen längeren Zeitraum in der Diät gegeben. Bisher war wenig darüber bekannt, ob Retinoide auch in der frühen Phase der Kanzerogenese eine zusätzliche Wirkung ausüben können und ob solche frühen Wirkungen die schon erwähnten Effekte in der späten Phase beeinflussen.
McCormick, Burns und Albert führten diesbezüglich sehr differenzierte Untersuchungen durch (150, 151). In der ersten Untersuchung (150) erhielten weibliche Lewis-Ratten jeweils eine einmalige Dosis von 20 mg DMBA per Magensonde. Von diesen Tieren erhielten Gruppen von jeweils 20 Ratten über unterschiedlich lange Zeiträume 250 mg Vitamin A-Acetat pro kg Diät: von -2 bis +1, +1 bis +30, +1 bis +12, +12 bis +30 und -2 bis +30, wobei hierbei der Tag 0 den Zeitpunkt der Gabe des Kanzerogens bezeichnet (zur Verdeutlichung: -2 bis +1 bedeutet, daß die Retinoidbehandlung zwei Wochen vor der Kanzerogengabe begonnen und eine Woche danach beendet wurde). Alle Gruppen, die mit dem Retinoid behandelt worden waren, zeigten eine signifikant geringere Tumorzahl als die entsprechenden unbehandelten Kontrollgruppen. In der "+1 bis +12"-Gruppe war diese Hemmung der Tumorentstehung zeitlich begrenzt, das heißt die Tumorzahlen erreichten in der 30. Woche die Werte der Kontrollgruppe. Die Retinoidbehandlung hat hier nur zu einer deutlichen Verlängerung der Latenzzeit bis zum Auftreten der ersten Tumoren geführt. Die geringste Tumorzahl wurde in der Gruppe beobachtet, die am längsten behandelt worden war (-2 bis +30), aber eine fast gleich große Wirkung wurde bei der Gruppe erzielt, die nur kurz das Retinoid während der Zeit erhielt, in der das Kanzerogen verfügbar war (-2 bis +1).

Die Tatsache, daß die kurzdauernde Gabe des Retinoids in der frühen Phase der Krebsentstehung (-2 bis +1) eine dauernde Hemmung der Krebsentstehung bewirkte, während

eine wesentlich längere, aber dennoch zeitlich begrenzte Behandlung in der späten Phase (+1 bis +12) nur zu einer verlängerten Latenzzeit führt, läßt vermuten, daß Vitamin A-Acetat über verschiedene Mechanismen zu verschiedenen Zeitpunkten der Kanzerogenese wirkt. Es ist bekannt, daß Retinoide über längere Zeit in der Leber gespeichert werden (siehe Abschnitt 2.3), das heißt es ist denkbar, daß das in der frühen Phase gegebene Retinoid gespeichert und dann erst langsam abgegeben wurde, also nur in der späten Phase gewirkt hat. Dann wäre aber zu erwarten gewesen, daß die Retinoidbehandlung in der frühen und in der späten Phase gleich wirkt. Dies war nicht der Fall. Diese Arbeit zeigt deutlich, daß die Retinoidbehandlung in der frühen Phase der Kanzerogenese eine Wirkung zeigt, die unabhängig von der schon bekannten während der späten Phase ist. Die beschriebenen unterschiedlichen Wirkungen in den beiden Phasen entsprechen der verbreiteten Annahme, daß die Intiierung der Kanzerogenese irreversibel, die Promotion dagegen reversibel ist. Die Verlängerung der Latenzzeit durch das Retinoid korreliert somit mit der Zeitdauer, in der es während der Promotion zur Verfügung steht. Dementsprechend wurde in der vorliegenden Arbeit beschrieben, daß die rechnerisch zusammengefaßten Ergebnisse der "+1 bis +12"-Gruppe und der "+12 bis +30"-Gruppe gleich waren, wie die der "+1 bis +30"-Gruppe.

Ganz im Gegensatz dazu ist die Tumorzahl in der "-2 bis +30"-Gruppe größer als man erwartet hätte, wenn die Wirkungen der "-2 bis +1"-und "+1 bis +30"-Gruppen additiv gewesen wären. Diese Tatsache, daß die kombinierte Anwendung des Retinoids in der frühen und der späten Phase nicht zu einer Verbesserung der Ergebnisse führte, ist momentan nicht zu erklären. Möglicherweise sind unterschiedliche Wirkungsmechanismen in den einzelnen Phasen dafür verantwortlich: in der frühen Phase könnte das

Retinoid zum Beispiel den Metabolismus des Kanzerogens verändern und dessen Bindung an die DNA verhindern, so daß dann die zusätzliche Behandlung mit Retinoiden in der späten Phase keine Wirkung mehr zeigen kann (289). Zu Recht bemerken die Autoren, daß schon mehrere Untersuchungen Hinweise in dieser Richtung gaben: Hill und Shih (104) sowie Hauswirth und Brizuela (99) haben gezeigt, daß manche Retinoide den mikrosomalen Metabolismus von BP, DMBA und 3-Methylcholanthren hemmen.
Kohl und Rüdiger (121) zeigten an menschlichen Fibroblastenkulturen, daß Retinoide konzentrationsabhängig den enzymatischen Abbau von Benzo(a)pyren und die Benzo(a)pyren-abhängige Alkylierung von DNA reduzierten. Gleichzeitig wurde eine Reduktion der Proteinsynthese nachgewiesen, wobei die Retinoide nicht eine generelle Blockade der Eiweißsynthese bewirkten, sondern die induzierbaren Enzyme des Benzo(a)pyrenabbaus bevorzugt hemmten. Es spricht also vieles dafür, daß Retinoide ihre Wirkung gegenüber bestimmten chemischen Kanzerogenen ausüben, indem sie die Aktivierung von Pro-Kanzerogenen hemmen (58).

In einer zweiten Untersuchung von McCormick, Burns und Albert (151) sollten die gleichen Fragestellungen bei durch Benzo(a)pyren (BP) induzierten Mammakarzinomen untersucht werden. BP gehört wie DMBA zu den polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen, die zu den wichtigsten chemischen Kanzerogenen gehören und praktisch ubiquitär in der menschlichen Umwelt vorkommen (198). Weibliche LEW/Mai-Ratten erhielten per Magensonde eine einmalige Dosis von 50 mg Benzo(a)pyren. Jeweils bezogen auf den Zeitpunkt der Gabe des Kanzerogens (entspricht o) erhielten Gruppen von je 20 Ratten zusätzlich 250 mg Vitamin A-Acetat pro kg Diät während den Wochen: -2 bis +1, +1 bis +90, +20 bis +90 und -2 bis +90 (Bezeichnung wie in der zuletzt beschriebenen Arbeit).

Bei 77 % der Tiere in der Kontrollgruppe entwickelten sich während der 90 Wochen des Experiments Mammatumoren, wobei es sich histologisch, wie in allen Gruppen, weit überwiegend um Adenokarzinome mit sehr unterschiedlich ausgepräger Drüsenbildung handelte. Die Gruppen, die mit Vitamin A-Acetat behandelt worden waren, zeigten signifikant weniger Tumoren; bei der Anwendung während der Wochen "-2 bis +1" sank der prozentuale Anteil der Tiere mit Tumoren zum Beispiel auf 44 %. Eine Ausnahme bildete die zwar länger dauernde, aber nach der Anwendung des Kanzerogens beginnende Behandlung während der Wochen "+1 bis +20". Sie führte nur zu einem späteren Auftreten der ersten Tumoren, das heißt zu einer Verlängerung der Latenzzeit. Obwohl die Latenzzeit bis zum Auftreten des ersten Tumors in dieser Gruppe durch das Retinoid auf 52 Wochen anstieg (gegenüber 40 Wochen in der Kontrollgruppe), erreichte diese Gruppe in der 60. Woche schließlich den gleichen prozentualen Anteil von Tieren mit Tumoren (71 %) und die gleiche durchschnittliche Tumorzahl pro Tier (1,07) wie die Kontrollgruppe (1,2).

Diese Ergebnisse bestätigen die Vermutungen der ersten Untersuchung, daß das Retinoid in den verschiedenen Stadien der Kanzerogenese über unterschiedliche Mechanismen gewirkt hat. Das "-2 bis +1"-Behandlungsschema scheint die Interaktion zwischen dem Kanzerogen und der Zielzelle so zu verändern, daß zumindest bei einem Teil der Tiere eine kanzerogene Antwort endgültig verhindert beziehungsweise eingeschränkt wird.
Schon vor dem Ende der Retinoidbehandlung ist diese Interaktion komplett und das verbliebene freie Kanzerogen aus der Brustdrüse eliminiert. Wird mit der Retinoidbehandlung erst eine Woche nach der Gabe des Kanzerogens (zum Zeitpunkt +1) begonnen, wird das Tumorwachstum nur so lange gehemmt, wie das Retinoid verfügbar ist. Nach

Absetzen des Retinoids in der 20. Woche sind aber die physiologischen Stimuli, die die Proliferation der Brustdrüsenzellen bewirken (zum Beispiel Prolaktin und Östrogen (152, 282)), immer noch vorhanden, so daß sie im Sinne eines Promotors wirken können. Die Promotion kann somit fortschreiten.

McCormick, Burns und Albert sind der Meinung, daß das Retinoid auf eine bestimmte, empfindliche Subpopulation von Zellen der Brustdrüse wirkt, eine Zellgruppe, die in allen Phasen der Kanzerogenese gleichartig auf die Gabe eines Retinoids reagiert. Dafür sprechen folgende Überlegungen:

1. Bei der "-2 bis +1"-Awendung wurden die gleichen Ergebnisse erzielt wie bei der "+1 bis +90"-Anwendung (44 bzw. 42 %).
2. Beide Schemata sind, für sich allein angewandt, effektiv, während die kombinierte Behandlung (-2 bis +90) nicht dazu führte, daß in dieser Gruppe noch weniger Tumoren auftraten. Würde das Retinoid in den verschiedenen Phasen auf unterschiedliche Zellen wirken, hätte man eine Addition der Erfolge erwarten können.

Beide Beobachtungen entsprechen dem Ergebnis der ersten Untersuchung, in der die Tumoren durch Gabe von DMBA ausgelöst wurden.

Bei der histologischen Untersuchung der Präparate zeigte sich, daß bei den mit Retinoid behandelten Tieren wesentlich weniger Milchgangshyperplasien zu beobachten waren als bei den Tieren, die das Kanzerogen ohne zusätzliche Retinoidbehandlung erhalten hatten. Es wurde verschiedentlich angenommen, daß die Adenokarzinome der Mamma vom Milchgang ausgehen (98, 204). Die genaue Rolle, die diese Hyperplasien in der Kanzerogenese spielen, ist allerdings noch nicht gesichert. Möglicherweise

hemmt das Retinoid die Entwicklung von Milchgangshyperplasien, die durch die Anwendung chemischer Kanzerogene ausgelöst werden. So wäre letztendlich die Wirkung des Retinoids auf einen proliferationshemmenden Effekt zurückzuführen.

Die bisher beschriebenen Untersuchungen sind alle an Ratten durchgeführt worden, bei denen durch polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe oder N-Nitroso-Verbindungen Mammakarzinome induziert waren. Dabei hat sich durchgehend die Wirkung einer Retinoidbehandlung bestätigt. Es sind aber auch Untersuchungen an Tumormodellen durchgeführt worden, bei denen chemische Kanzerogene keine Rolle spielten. Maiorana und Gullino (142) untersuchten die Wirkung von Retinoiden an C3H-A^{vy}-Mäusen, ein Stamm, der das Mammatumorvirus der Maus trägt, so daß bis zum Lebensalter von 15 Monaten ungefähr 90 % der Tiere an "spontan auftretenden" Mammakarzinomen erkranken. Bis zu ihrer Tötung erhielten die Tiere 83, 41 oder 21 mg Vitamin A-Acetat (RA) pro kg Diät. Die Tiere wurden einen Monat nach dem Auftreten des ersten Mammatumors getötet oder im Alter von 15 Monaten, wenn kein Tumor auftrat. Es fand sich kein signifikanter Unterschied der relativen Zahl von Mammakarzinomen zwischen der Kontrollgruppe und den Gruppen, die mit Vitamin A-Acetat behandelt wurden. In allen Gruppen entwickelten 80 bis 90 % der Tiere Karzinome. Auch die durchschnittliche Tumorzahl pro Maus (1,6/2,1) und die Latenzzeit bis zum Auftreten des ersten Tumors (10,2/11,6 Mon.) wurden durch das Retinoid nicht beeinflußt.

Gleichzeitig wurden zwei unerwartete, interessante Beobachtungen gemacht:

1. Die Retinoidbehandlung reduzierte signifikant das Auftreten von Hepatomen. Tiere, die unbehandelt blieben und im Alter zwischen 12 und 15 Monaten getötet

wurden, zeigten in 70 % der Fälle Hepatome, während bei den Tieren, die 83 mg RA pro kg Diät erhielten, nur 10 bis 12 % der Tiere Hepatome entwickelt hatten. Allerdings hatten die mit RA behandelten Tiere im Durchschnitt ein geringeres Gewicht, so daß dieses Ergebnis nicht sicher auf eine spezifische Wirkung des Retinoids zurückzuführen ist.

2. In sehr vielen Gelenken der Tiere, die das Retinoid erhalten hatten, entstand ein schwerer Schaden. Dies konnte sogar bei der niedrigen Dosis von 21 mg RA/kg Diät beobachtet werden, einer Dosis, die sonst keinerlei Zeichen einer Toxizität zeigte.

Diese Beobachtung ist sehr wichtig, da sie auf eine Nebenwirkung der Vitamin A-Behandlung hinweist, die erst nach längerer Behandlungsdauer auftritt und in vielen anderen Untersuchungen, wegen der kürzeren Versuchsdauer, nicht beobachtet werden konnte.

Welsch u.a. (283) untersuchten die Wirkung von Vitamin A-Acetat an einem dritten Tumormodell, dem hormon-induzierten Mammatumor in der weiblichen GR/A-Maus. Die in diesem Inzuchtstamm auftretenden Mammatumoren unterscheiden sich von denen anderer Stämme, weil hier das Mammatumorvirus nicht nur durch die Milch, sondern auch durch die männlichen und weiblichen Gameten übertragen werden kann. Diese Tumoren sind zudem hormonabhängig, so daß ihre Entwicklung und ihr Wachstum durch Östrogen und Progesteron stimuliert wird. Die 13- bis 16-wöchige Gabe von Vitamin A-Acetat (82 mg/kg Diät) führte bei den gleichzeitig mit Hormonen behandelten Tieren zu einer wesentlich höheren Tumorzahl als in der Kontrollgruppe.

Damit zeigte sich, daß drei differierende Modelle des Brustkrebses, die sich morphologisch und physiologisch stark unterscheiden, auf eine Behandlung mit Vi-

tamin A-Acetat völlig verschieden reagieren. Die unerwarteten Ergebnisse von Welsch u.a. an hormon-induzierten Mammatumoren könnten zunächst dazu verleiten, eine Anwendung von Vitamin A endgültig als nicht sinnvoll beziehungsweise gefährlich zu betrachten, da sich hier eine kokanzerogene Wirkung gezeigt hat. Diese Ergebnisse sind aber mit Vorsicht zu bewerten: die Tumorbildung durch das Mammatumorvirus der Maus ist das Resultat einer komplexen Wechselbeziehung zwischen Virus, der genetischen Konstitution des Wirtsorganismus und verschiedenen hormonellen Faktoren (111). Die These, daß auch beim Menschen Viren als generelle Krebsursache in Frage kommen, wird im allgemeinen bezweifelt (111, 148, 217).

Auch die grundsätzliche Hormonabhängigkeit der Tumoren der GR/A-Maus läßt sich nicht auf den Menschen übertragen: etwa 50 % aller Mammakarzinome sind hormonempfindlich, die Hälfte davon werden durch Androgene, die anderen durch Östrogene im Wachstum gehemmt (80).

5.3 Tumoren des Respirationstrakts

Die Wirkung von Retinoiden auf die Entstehung tierexperimenteller Tumoren des Respirationstrakts ist von besonderem Interesse wegen der großen Zahl epidemiologischer Arbeiten, die den Zusammenhang von Vitamin A-Aufnahme und individuellem Lungenkrebsrisiko untersucht haben (siehe 10.1).
Schon im Jahr 1967 berichteten Saffiotti u.a. (209) von einem hemmenden Effekt einer Behandlung mit Vitamin A-Palmitat, das syrischen Goldhamstern in einer Dosis von jeweils 5 mg in halbwöchigem Abstand per Magensonde verabreicht wurde. Die Tumoren wurden durch 10 intratracheale

Instillationen von jeweils 3 mg Benzo(a)pyren (BP) in wöchentlichem Abstand induziert; das Kanzerogen war dabei an feine Partikel von Eisenoxid gebunden und wurde somit in Form von Stäuben instilliert. Unter der Retinoidbehandlung, die eine Woche nach der letzten Gabe von BP begann, traten nur bei 11 % der Hamster Tumoren des Respirationstrakts auf, während es 43 % bei der Kontrollgruppe waren. Die meisten der Tumoren entwickelten sich in den (großen) Bronchien oder in der Trachea. Histologisch fand sich bei den bronchogenen Karzinomen eine bemerkenswerte Ähnlichkeit mit denen des Menschen: ein Großteil der Tumoren waren Plattenepithelkarzinome.

1975 konnten Smith u.a. (238, 239) in zwei voneinander unabhängigen Untersuchungen, an jeweils mehreren hundert Hamstern, dieses Ergebnis nicht bestätigen. Die Behandlung mit 0,1, 1,6 oder 3,3 mg Vitamin A-Acetat pro Woche (per Magensonde) konnte die Entwicklung von Tumoren des Respirationstrakts nicht hemmen.
Das Kanzerogen BP wurde in der gleichen Weise und Dosierung wie von Saffiotii u.a., aber 12 Wochen lang gegeben. Eine Woche nach der letzten Instillation begann die wöchentliche Retinoidbehandlung. Der Anteil der Hamster mit Tumoren lag in der einen Untersuchung bei 70 %, in der anderen bei 45 %; dabei ergaben sich durch eine Retinoidbehandlung keine signifikanten Unterschiede von diesen Werten. Auffallend war, daß bei den Hamstern, die mit Vitamin A-Acetat behandelt worden waren, signifikant weniger Magenpapillome auftraten.

Die fehlende Wirkung des Retinoids bei Smith u.a. könnte aber auf den unterschiedlichen Behandlungsmodus zurückzuführen sein. Saffiotti u.a. haben 10 mg Vitamin A pro Woche, auf zwei Gaben verteilt, gegeben;

Smith u.a. maximal 3,3 mg in einer einmaligen Gabe. Es ist durchaus denkbar, daß durch die niedrigere Dosis und die längeren Behandlungspausen die Wirkung des Kanzerogens einen Effekt der Vitaminbehandlung überwiegen konnte.

Von Port u.a. (196) wurde eine dritte Untersuchung vorgenommen, in der auf die gleiche Weise wie bei Saffiotti u.a. mit 10 intratrachealen Instillationen von 3 mg BP Tumoren erzeugt wurden. Dabei wurde aber eine der ersten synthetischen Vitamin A-Verbindungen mit wesentlich verminderter Toxizität, 13-cis-Retinsäure, verwandt. Die Hamster erhielten nach Beendigung der Gabe des Kanzerogens lebenslang wöchentlich 3 mg des Retinoids (halbwöchentlich 1,5 mg per Magensonde). Das Retinoid reduzierte das Auftreten von Plattenepithelkarzinomen drastisch: bei 10 % der Kontrolltiere wurden diese Karzinome gefunden, während bei 152 mit dem Retinoid behandelten Tieren nur 2 derart erkrankten. Eine noch höhere Dosierung von 13-cis-Retinsäure (9 mg pro Woche) verhinderte bei allen 158 so behandelten Tieren das Auftreten von Karzinomen, ohne irgendwelche Zeichen einer Toxizität dieser Behandlung zu produzieren. Eine biologisch äquivalente Dosis von Vitamin A-Acetat oder -Palmitat hätte zu sehr schweren toxischen Nebenwirkungen geführt und eine solche Dosierung nahezu unmöglich gemacht.

Mit dieser Untersuchung wurde schon 1975 verdeutlicht, daß sich die zukünftige Erforschung der Chemoprävention von Lungenkarzinomen auf synthetische Retinoide konzentrieren muß. So wurde von Stinson u.a. (251) der Einfluß dreier verschiedener Retinoide auf die Entwicklung maligner Neubildungen der Trachea männlicher syrischer Goldhamster verglichen. Die Luftröhre dieser

Tiere wurde einmal pro Woche über 12 Wochen mit einer 0,5 % Lösung von N-Nitrosomethylharnstoff (MNU) gespült. Nach Beendigung dieser Behandlung erhielten die Tiere sechs Monate lang eine Diät, die 120 mg 13-cis-Retinsäure oder 343 mg N-(2-Hydroxyethyl)retinamid pro kg enthielt. Die Retinoide führten zu einer größeren Zahl von Tieren mit Karzinomen, wobei der Unterschied in der mit N-(2-Hydroxyethyl)retinamid behandelten Gruppe nicht signifikant war. Dieses Ergebnis ist den Resultaten der früheren Untersuchung von Saffiotti u.a. (209) entgegengesetzt.

Die fehlende Übereinstimmung zwischen diesen Untersuchungen könnte allerdings auf mehrere Unterschiede in der Durchführung der Versuche zurückzuführen sein. So ist MNU ein direkt wirkendes Kanzerogen, während das von Saffiotti benutzte Benzo(a)pyren zunächst enzymatisch aktiviert werden muß. Obwohl die Retinoide in beiden Untersuchungen mit zeitlichem Abstand nach dem Kanzerogen gegeben wurden, ist hier ein möglicher Unterschied vorhanden. Außerdem war das Gebiet, das dem kanzerogenen Stoff ausgesetzt wurde, in der neueren Untersuchung von Stinson u.a. wesentlich enger begrenzt: nur ein lokalisiertes Segment der Trachea wurde gespült. Saffiotti u.a. verteilten dagegen das Kanzerogen auf den ganzen Respirationstrakt bis in die Peripherie des Bronchialsystems. Andere grundsätzliche Unterschiede waren:

- das Geschlecht der Tiere
- die Anwendungsart und -frequenz des Retinoids
- die Art des Retinoids
- die Versuchsdauer.

Andererseits konnten Smith u.a. trotz einer Versuchsdurchführung, die der von Saffiotti u.a. sehr ähnlich war, keine präventive Wirkung finden.

Aber auch weitere Untersuchungen an anderen Tiermodellen konnten die verwirrende Situation nicht klären: Dontenwill u.a. (60) untersuchten die Bedeutung einer Vitamin A-Behandlung für die Folgen einer chronischen Zigarettenrauchinhalation beim syrischen Goldhamster. Den Tieren wurde lebenslang täglich 5 mg Vitamin A pro kg Körpergewicht mit dem Futter gegeben. Als Folge der Berauchung wurden im Bereich des Kehlkopfes Leukoplakien verschiedener Schweregrade und Karzinome beobachtet. Durch die Gabe des Vitamins kam es zu einer starken Zunahme der papillomatösen Leukoplakien, während die verrukösen deutlich zurückgingen. Eine Zu- oder Abnahme der Karzinome war nicht erkennbar. Vitamin A hat also die durch die Rauchinhaltsstoffe ausgelöste Reizbeantwortung in eine andere Richtung gelenkt. Bei den papillären Wucherungen handelt es sich um Zylinderepithel.
Da Vitamin A bekanntlich für die Differenzierung des Zylinderepithels verantwortlich ist, nimmt das geänderte Spektrum der gefundenen Organveränderungen nicht wunder. Da sich diese Untersuchung nur auf Veränderungen im Bereich des Kehlkopfs beschränkt, dürften die gefundenen Ergebnisse in der Bewertung der Retinoidwirkung bei Lungentumoren kaum hilfreich sein.

Nettesheim u.a. (51, 169, 170, 171) führten mehrere ausgedehnte Untersuchungen an Fischer-344-Ratten durch, die im Alter von 9 Wochen zwei intratracheale Injektionen von 3-Methylcholanthren (MCA) erhielten, wobei zwischen den Injektionen eine Zeitspanne von 24 Stunden lag. Die Dosis lag in den verschiedenen Untersuchungen zwischen jeweils 1,3 und 12 mg. Untersucht wurden die Wirkungen von Behandlungen mit Vitamin A-Acetat, 13-cis-Retinsäure und einem neueren, synthetischen Retinoid, Ro 11-1430. Vitamin A-Acetat wurde

zum Beispiel jeweils in einer Dosis von 1,74 mg zweimal wöchentlich per Magensonde gegeben. Ein hemmender Effekt der Retinoide auf die Kanzerogenese konnte in diesen Untersuchungen zwar nicht durchgehend, aber überwiegend bestätigt werden.
Durchgehend zeigte sich aber, daß bei Ratten, denen unterdurchschnittliche Mengen von Vitamin A zugeführt wurden (wöchentlich 0,0174 mg), signifikant häufiger Lungenkrebs entstand. Auch für diese Untersuchung haben die kritischen Anmerkungen zur Arbeit von Smith u.a. (238) Gültigkeit: möglicherweise wurde das Retinoid in zu niedriger Dosis oder zu selten gegeben, so daß bei den sehr hohen Dosen das Kanzerogen eine Wirkung des Retinoids zu gering war.

Bei einem Teil der Untersuchungen von Nettesheim u.a. wurde das Kanzerogen zu einem Zeitpunkt gegeben, als die Ratten schon das Retinoid erhielten. Dies erklärt vielleicht unterschiedliche Ergebnisse: die gefundene hemmende Wirkung auf die Tumorentstehung könnte eine Wirkung auf die Initiierung oder auf den Metabolismus des Kanzerogens sein. Sowohl Smith u.a. als auch Stinson u.a., die beide keine chemopräventive Wirkung der von ihnen untersuchten Retinoide fanden, haben mit der Retinoidbehandlung erst eine Woche nach der letzten Gabe des Kanzerogens begonnen. Diese Überlegungen können aber nicht darüber hinwegtäuschen, daß die gefundenen Ergebnisse sehr verwirrend und unbefriedigend sind. Es ist momentan noch unklar, wieso die Ergebnisse über die Hemmung der Tumoren des Respirationstrakts so widersprüchlich sind, im Vergleich zu den Ergebnissen, die für Mamma-, Harnblasen- und Hauttumoren gefunden wurden.

Die Ergebnisse von Verma u.a. (262, 263, 264; siehe Abschnitt 5.4) sprechen dafür, daß ein wesentlicher

Mechanismus der Wirkung der Retinoide eine Hemmung der Promotion ist. Wenn man die Ergebnisse, die an Hauttumoren gewonnen wurden, auf andere Tumoren übertragen kann, wird man nicht damit rechnen können, einen hemmenden Effekt der Retinoide dann zu finden, wenn die Promotion keine wesentliche Rolle spielt. Das ist zum Beispiel der Fall, wenn chemische Kanzerogene in relativ hohen Dosen angewandt werden oder wenn kein Promotor im Versuchssystem existiert. Vielleicht waren die Dosen, die in einigen Untersuchungen zur Induktion von Tumoren des Respirationstrakts verwendet wurden, schon "vollständig" kanzerogen; oder es gibt möglicherweise in der Kanzerogenese des Respirationstrakts keinen natürlich vorkommenden Promotor (51, 171).

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die vorliegenden Befunde nicht grundsätzlich dagegen sprechen, daß Retinoide einen hemmenden Effekt auf die Tumoren des Respirationstrakts haben. Erwähnenswert sind in diesem Zusammenhang die Ergebnisse von Kistler und Peter (119), die an serienmäßig in der nu/nu-Maus passagierten, menschlichen Bronchuskarzinomen zeigten, daß das Wachstum dieser Tumoren durch die einmalige Gabe eines aromatischen Retinoids (allerdings in einer toxischen Dosis) gehemmt wird. Differenziert wird man in Zukunft folgende Probleme untersuchen müssen:

1. Wirken Retinoide nur bei solchen Kanzerogenen, die metabolisch aktiviert werden müssen?
2. Wirken Retinoide nur auf die Phase der Promotion? Welche Bedeutung hat die Promotion bei den untersuchten Tumormodellen?
3. In welcher Dosis und in welchen Dosierungsintervallen müssen die Retinoide gegeben werden? Die von Stinson u.a. gefundene Förderung der Kanze-

rogenese durch Retinoide zeigt, daß zur Zeit bei der Beurteilung noch Vorsicht geboten ist.

5.4 Tumoren der Haut

W. Bollag (20, 21, 22, 23, 147) hat die Wirkung von Retinoiden auf tierexperimentelle Tumoren der Haut am ausführlichsten untersucht. Da die Tumoren in allen Untersuchungen gleichartig induziert wurden, sei eine Beschreibung der Versuchsdurchführung vorangestellt:

1. Zur Initiierung wurde ein Stück der Rückenhaut von Swiss Albino-Mäusen am 1. und 8. Versuchstag mit jeweils 150 µg 7,12-Dimethylbenz(a)anthracen (DMBA) (gelöst in 0,2 ml Azeton) bepinselt.
2. Die Promotion erfolgte ab dem 38. (bei einem Teil der Untersuchungen 42.) Versuchstag durch eine Bepinselung derselben Stelle mit jeweils 0,5 mg Krotonöl (gelöst in 0,2 ml Azeton) in halbwöchigem Abstand bis zum Versuchsende.

In diesem Modell wird also eine initiierende Dosis eines Kanzerogens gegeben, die für sich selbst nicht tumorerzeugend ist. Darauf folgen wiederholte Anwendungen eines promovierenden Stoffes, der alleine gegeben, ebenfalls keine Tumoren auslösen kann. Durch die kombinierte Behandlung entstehen Papillome und Karzinome.

Ausgangspunkt der Arbeit Bollags waren Untersuchungen über einen therapeutischen Effekt von Retinoiden an diesem Tumormodell (18, 19, 23). Mäusen, die Papillome oder Karzinome entwickelt hatten, wurde Vitamin A-Säure intraperitoneal oder oral per Magensonde verabreicht. Die Dosen betrugen entweder 100-400 mg/kg KG einmal

wöchentlich oder 20-40 mg/kg KG täglich. Es wurde beobachtet, wie sich unter diesen Therapieschemata die Tumoren veränderten: Papillome und Karzinome konnten zu partieller und vollständiger Regression gebracht werden. Sowohl orale wie parenterale tägliche oder wöchentliche Applikation waren wirksam. Die verabreichten Dosen hatten gewisse toxische Nebenwirkungen, wobei vorübergehende Gewichtsverluste bis zu 20 % des Körpergewichts, Hautschuppung und Haarausfall im Vordergrund standen. Interessant ist, daß im Rahmen dieser Versuchsreihe gezeigt werden konnte, daß Vitamin A-Säure keinen hemmenden Effekt auf das Wachstum von sechs verschiedenen transplantablen Tumoren hatte (18).

Die Ergebnisse motivierten Bollag (20) zu weiteren Untersuchungen, in denen er prüfen wollte, ob Vitamin A-Säure auch einen prophylaktischen Effekt auf die Induktion dieser Papillome und Karzinome hat. Das Retinoid wurde jetzt ab dem 44. Versuchstag in zweiwöchigem Abstand in einer Dosis von jeweils 200 mg/kg KG per Magensonde gegeben. Das Retinoid führte bei den so behandelten Tieren zu einer Verlängerung der Latenzzeit bis zum Auftreten der ersten Tumoren, zu einem verlangsamten Wachstum der sich trotz Therapie entwikkelnden Tumoren, und zu einer Senkung der durchschnittlichen Papillomzahl pro Tier auf 1,8 gegenüber 3,4 bei der Kontrollgruppe (am 288. Versuchstag). Karzinome traten stark verzögert und in deutlich geringerer Zahl auf (6 gegenüber 18 bei der Kontrollgruppe). Die gute Wirksamkeit der Retinoidbehandlung wird am deutlichsten, wenn man die Zahlen der vollständig tumorfreien (also weder Papillome noch Karzinome tragenden) Tiere vergleicht: nur 16 % (4 von 25) der Kontrolltiere waren tumorfrei, dagegen 50 % (16 von 32) der mit dem Retinoid behandelten.

Die beschriebenen toxischen Wirkungen der Behandlung mit Vitamin A-Säure begrenzen deren Anwendbarkeit für prophylaktische und therapeutische Zwecke von vornherein. Bollag hat deshalb schon nach den ersten Arbeiten versucht, synthetische Retinoide einzusetzen, von denen er sich bessere Wirkungen bei verminderter Toxizität erhoffte. Ro 10-9359, ein aromatisches Derivat der Vitamin A-Säure, war eines der ersten dieser neuen Retinoide, für die Bollag den Wirksamkeitsnachweis im beschriebenen Hauttumormodell erbringen konnte (22). Ab dem 42. Versuchstag, das heißt gleichzeitig mit dem Beginn der Promotion, erhielten die Tiere täglich (beziehungsweise an 5 Tagen der Woche) per Magensonde je 30 mg des Retinoids pro kg Körpergewicht. Dadurch verlängerte sich die Latenzzeit bis zum Auftreten der ersten Tumoren. Gleichzeitig war die Zahl der Papillome und Karzinome signifikant kleiner: die Gesamtzahl der Karzinome betrug in der Kontrollgruppe 46 (bei 66 Tieren), in der mit dem Retinoid behandelten nur 4 (bei gleichfalls 66 Tieren). Bei Beendigung des Experiments nach 293 Tagen waren nur 10,6 % der Kontrolltiere weder an Papillomen noch an Karzinomen erkrankt, während bei den mit Ro 10-9359 behandelten Tieren 57,1 % tumorfrei waren.

Die hier verwandten Dosen des Retinoids führten nur zu einer leichten Schuppung der Haut, während andere toxische Nebenwirkungen nicht beobachtet werden konnten.
In einer parallelen Untersuchung (147) konnten Bollag und Matter den schon beschriebenen therapeutischen Effekt von Vitamin A-Säure auch für Ro 10-9359 in gleichem Umfang bestätigen. Diese Arbeiten haben gezeigt, daß die therapeutische und präventive Wirkung eines Retinoids nicht zwangsläufig mit dessen toxischer Nebenwirkung verbunden sein muß. Es wird also prinzipiell

möglich sein, weitere Retinoide zu synthetisieren, deren biologische Wirkungen größer und toxische Nebenwirkungen geringer sind.

Verma u.a. (262, 263, 264) haben sich wie Bollag sehr eingehend mit der Wirkung von Retinoiden auf die Entstehung von Hauttumoren befaßt, dabei vor allem biochemische Probleme bearbeitet und sehr interessante Ergebnisse erzielt. Sie untersuchten im klassischen Experiment nach Berenblum die Veränderungen, die durch eine Gabe von Retinoiden ausgelöst wurden. Die chemische Induktion von Papillomen in der Mäusehaut läßt sich in zwei Phasen zerlegen: bei der Initiierung verursachen Kanzerogene (wie zum Beispiel polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe) einen primären Schaden in der Zelle - Bedingung für das Ablaufen des zweiten Schrittes, bei dem Promotoren (wie Phorbolester) die initiierte Zelle in Richtung Malignität vorantreiben. Natürlich sind diese Untersuchungen, in denen durch die Kombination zweier nicht "absolut" kanzerogener Ereignisse Tumoren ausgelöst wurden, nicht vorbehaltlos auf die zu übertragen, in denen durch ein "vollständiges" chemisches Kanzerogen der Prozeß der Krebsentstehung in Gang gesetzt wurde (wie in den meisten tierexperimentellen Untersuchungen, die oben beschrieben wurden). Ergebnisse solcher Untersuchungen können dennoch helfen, die Frage nach dem Wirkungsmechanismus der Retinoide zu lösen, zumal nicht auszuschließen ist, daß "vollständige" Kanzerogene auf der Zellebene über die gleichen biochemischen Prozesse wirken.

Jede einzelne Gabe eines Tumorpromotors dürfte gewisse morphologische und biochemische Veränderungen am Ort der Anwendung (zum Beispiel in den Zellen der Mäuse-

haut) auslösen. Entscheidend für Eingriffe in dieses System ist die Identifizierung der Veränderungen, die von unabdingbarer Wichtigkeit für die Bildung eines Tumors sind. Es hat sich gezeigt, daß die Polyamine Putrescin, Spermidin und Spermin ebenso wie die für ihre Synthese notwendigen Enzyme Ornithindecarboxylase (ODC) und S-Adenosyl-L-methionindecarboxylase in vielen Geweben nach der Anwendung wachstumsaktivierender Stimuli in höherer Konzentration vorgefunden werden können. Die ODC-Aktivität ist der erste und begrenzende Schritt in der Polyaminbiosynthese (genaues Schema in 177). Mehrere Beispiele, wo ein starker Aktivitätsanstieg der ODC gefunden wurde, liegen vor (177):

- in der sich regenerierenden Leber von Nagetieren nach partieller Hepatektomie
- in Lymphozyten aus Zellkulturen nach der Stimulation durch ein Mitogen
- in verschiedenen Zielorganen nach der Behandlung mit wachstumsaktivierenden Hormonen
- in experimentell erzeugten Neubildungen, wie zum Beispiel dem Morris-Hepatom und in L 1210-Leukämiezellen
- in Kükenzellen nach der Infektion mit dem Rous-Sarkom-Virus.

Untersuchungen von O'Brien (177) haben gezeigt, daß schon eine einmalige lokale Anwendung von 12-O-Tetradecanoyl-phorbol-13-acetat (TPA), der aktiven Komponente des Krotonöls, zu einem schnellen und starken Anstieg der ODC-Aktivität in der Mäuseepidermis führt. Fünf Stunden nach der Anwendung von TPA ist die Enzymaktivität 250 mal größer als die Kontrollgröße. Die Veränderung dieser Enzymaktivität führt zu einer Akkumulation der Polyamine. Dafür, daß die Induktion der epidermalen ODC durch tumor-promovierende Wirkstoffe

eine phänotypische Veränderung ist, die eine für die Kanzerogenese in der Mäusehaut typische und/oder notwendige Bedingung ist, sprechen folgende Befunde (110, 176, 177, 215, 288):

- Das Ausmaß des Enzymanstiegs korreliert mit der relativen Potenz verschiedener ähnlicher Phorbolester, als Promotor zu wirken. Es könnte also einem Marker für Wachstum beziehungsweise Krebs entsprechen.
- Promovierende Stoffe, die eine chemisch andere Struktur als Phorbolester besitzen, aktivieren ebenfalls dieses Enzym, während Stoffe, die als Promotor keine Wirkung zeigen, aber zum Beispiel Hyperplasien verursachen, die ODC-Aktivität nicht beeinflussen. Die Aktivität der S-Adenosyl-L-methionindecarboxylase wird im Gegensatz dazu von beiden Substanzgruppen erhöht.
- Untersuchungen mit kanzerogenen Kohlenwasserstoffen haben gezeigt, daß nur bei der Gabe einer hohen Dosis eines "kompletten" Kanzerogens eine Aktivierung der ODC stattfindet, während eine nur subkanzerogene Dosis unwirksam war.
- Sogar klinische Untersuchungen beim Menschen haben in verschiedenen Tumoren erhöhte Polyaminspiegel nachgewiesen.

Trotz der Ergebnisse so vieler Untersuchungen bleibt es fraglich, ob die beschriebenen Veränderungen eine Teilursache oder sekundäre Folgen der Entwicklung maligner Neubildungen sind. Zumindest für die Entscheidung, ob neue Substanzen als Promotor bewertet werden müssen, scheint ihre jeweilige Potenz, die ODC zu induzieren, ein zuverlässiges und gutes Kriterium zu sein.

Verma und Boutwell (262) wiesen nach, daß Retinsäure ein spezifischer Inhibitor des durch Phorbolester ver-

ursachten ODC-Aktivitätsanstiegs ist. Da Retinsäure schon eine prophylaktische Wirkung auf die Entstehung von Hauttumoren im Tierversuch gezeigt hat (20), machte man sich natürlich Gedanken über einen möglichen Zusammenhang zwischen der Enzyminduktion von ODC und der Promotion von Hauttumoren: im in vivo-Testsystem sind die Retinoide in dieser Hinsicht sehr wirksam. Selbst die lokale Anwendung von nur 1 nmol Retinsäure auf der Mäusehaut konnte den durch Phorbolester verursachten Aktivitätsanstieg der ODC merklich hemmen. Das Ausmaß dieser Hemmung war von der Dosis und dem Zeitpunkt der Anwendung der Retinsäure abhängig. Im Gegensatz dazu wurde der Anstieg der S-Adenosyl-L-methionindecarboxylase nicht beeinflußt. Aufgrund dieser Ergebnisse testeten die Autoren weitere Vitamin A-Derivate, bei denen sich folgende Reihenfolge ergab, wenn sie in der Reihenfolge ihrer Potenz, den Enzymanstieg zu hemmen, angeordnet wurden: Retinsäure (am stärksten) - Retinal - Retinol - Vitamin A-Acetat - Vitamin A-Palmitat (am schwächsten). Diese Reihe korrelierte exakt mit der Fähigkeit der einzelnen Retinoide, im Tierversuch die Promotion von Hauttumoren zu hemmen (Tabelle in 262). Zum Beispiel führte die Bepinselung mit Retinsäure, der wirksamsten der hier erwähnten Retinoide, dazu, daß sich die durchschnittliche Zahl der Hauptpapillome pro Maus von 14,2 (Kontrollgruppe) auf 5,5 reduzierte.

Darüber hinaus wurde untersucht, über welchen Wirkungsmechanismus Retinoide hier wirken: lösliche Extrakte von Mäuseepidermis, die vor der Behandlung mit TPA entweder nur mit Azeton (dem Lösungsmittel) oder nur mit Retinsäure behandelt worden waren, wurden in vitro gemischt. Die ODC-Aktivität der Mischung war genauso groß wie die Summe der Einzelaktivitäten. Es ist deshalb nicht anzunehmen, daß das Retinoid zu der Bil-

dung eines spezifischen Inhibitors der epidermalen ODC-Aktivität führt. Ein solcher Inhibitor hätte den Anstieg in dem Teil der Mischung, der nur mit Azeton vorbehandelt worden war, mithemmen müssen und zu einem kleineren Gesamtanstieg führen müssen. Auch der nachträgliche in vitro-Zusatz von Retinsäure zu einem löslichen Extrakt der mit TPA schon vorbehandelten Epidermis veränderte nicht die ODC-Aktivität, wie es bei einer direkten Beeinflussung derselben zu erwarten gewesen wäre.

Für die Theorie, die Zusammenhänge zwischen der durch TPA erhöhten ODC-Aktivität und der Hauttumorpromotion annimmt, gab es in neueren Untersuchungen von Verma u.a. (264) weitere Hinweise. Nach der Initiierung mit DMBA stieg die ODC-Aktivität der Mäusehaut unter der wiederholten Gabe von TPA (jeweils 17 nmol) zum Teil bis auf den 600-fachen Wert an. Die lokale Gabe von 1,7 nmol Retinsäure, jeweils eine Stunde vor der Behandlung mit TPA, hemmte diesen Enzymanstieg um 60 bis 80 %. In entsprechenden Tierversuchen, in denen unter vergleichbaren Bedingungen die biologischen Wirkungen einer solchen Behandlung untersucht wurden, führte die Gabe der gleichen Menge Retinsäure (jeweils eine Stunde vor TPA) zu einer Reduzierung der durchschnittlichen Zahl der Papillome pro Maus um 57 %. Wurde die Retinsäure dagegen jeweils 24 Stunden nach den TPA-Behandlungen gegeben, konnte kein Einfluß auf die Zahl der auftretenden Hauptpapillome festgestellt werden. 24 Stunden nach der Behandlung mit TPA ist die Aktivität der ODC aber bereits wieder auf ihren Ausgangswert abgesunken, zu diesem Zeitpunkt eine Beeinflussung durch das Retinoid also kaum mehr möglich.

Die Retinoidbehandlung hemmt sehr spezifisch den durch TPA verursachten ODC-Aktivitätsanstieg und den daraus

resultierenden Anstieg des Putrescinspiegels, während der Anstieg der S-Adenosyl-L-methionindecarboxylaseaktivität und die Akkumulation von Spermidin und Spermin nicht beeinflußt wird. Eine allgemeine Zytotoxizität der Retinoide (die zu einer Hemmung aller biochemischen Prozesse führen würde) scheidet somit als kausaler Faktor aus.

Der sehr begrenzte, nur wenige Stunden lange Zeitraum, in dem eine Behandlung mit Retinoiden eine Wirkung zeigt, demonstriert, daß die lokale Behandlung mit Retinoiden sehr spezifisch auf den Vorgang der Promotion wirkt. Es ist dabei zu betonen, daß eine systemische Gabe von Retinoiden über ganz andere Mechanismen und zu einem völlig anderen Zeitpunkt der Kanzerogenese wirken kann. Außerdem wird die Bedeutung der tumorpromovierenden Stoffe für den Menschen stark bezweifelt: so kennt D. Schmähl (217) keinen einzigen chemisch definierten Stoff, der beim Menschen als Promotor identifiziert wäre.

Obwohl diese Aussagen nur wenig zur Klärung der bestehenden Probleme beitragen, liefert die Bestimmung des Anstiegs der ODC-Aktivität nach TPA möglicherweise eine zuverlässige Methode, die Antitumoreigenschaften neuer Retinoide im Sinne eines Screening-Verfahrens spezifisch und schnell festzustellen.

5.5 Andere Tumoren

Der Einsatz von Retinoiden zur Chemoprävention maligner Tumoren wurde noch an einer großen Zahl weiterer tierexperimenteller Tumormodelle untersucht, allerdings weniger systematisch als bei den bereits beschriebenen. Deshalb ist die Aussagekraft dieser Untersuchungen begrenzt. Von besonderem praktischen Interesse ist die Rolle der Retinoide bei der Kanzerogenese im Dickdarm: in der Krebsmortalität ist beim Dickdarmkarzinom (das heißt Kolon- und Rektumkarzinom) in den letzten Jahren eine ständig steigende Tendenz beobachtet worden (74). Es war 1980 in der Bundesrepublik Deutschland insgesamt die zweithäufigste Krebstodesursache (250).

Rogers u.a. (201) haben eine wesentlich gesteigerte Anzahl (100 % gegenüber 60 %) von Kolonkarzinomen bei Ratten beobachtet, die eine Vitamin A-Mangeldiät erhalten hatten und mit dem Kanzerogen 1,2 - Dimethylhydrazin (DMH) behandelt worden waren. Eine mit Vitamin A-Palmitat angereicherte Diät (500 IU pro g Diät) veränderte nicht die Anzahl von Kolonkarzinomen gegenüber der Diät, die die für Ratten als üblich betrachtete Dosis (30 IU pro g Diät) enthielt. Dieselben Untersucher (172, 173) zeigten, daß eine erniedrigte Vitamin A-Zufuhr auch bei Ratten, die Aflatoxin B_1 in der Diät oder per Magensonde erhalten hatten, zu einer Zunahme von Kolonkarzinomen führt. Leberkarzinome entwickelten sich in der aus früheren Untersuchungen bekannten Häufigkeit, ohne eine Abhängigkeit von der Vitamin A-Zufuhr zu zeigen.

Ward u.a. (271) verwendeten 13-cis-Retinsäure, die sich in anderen Tumormodellen schon sehr gut bewährt hatte (zum Beispiel 10, 91, 249). Zur Induktion von Kolon-

tumoren erhielten F344-Ratten 16 intrarektale Gaben von jeweils 2, 1 oder 0,5 mg MNU über einen Zeitraum von acht Wochen verteilt. Ab dem 5. Tag nach der letzten Gabe von MNU erhielt ein Teil der Tiere das Retinoid in einer Dosis von 240 mg pro kg Diät. Unterschiede in der Häufigkeit von Kolontumoren oder in der histopathologischen Bewertung waren unter der Behandlung mit 13-cis-Retinsäure nicht zu finden. Aufgrund dieser Ergebnisse kann aber keinesfalls der Schluß gezogen werden, daß Retinoide auf die Entstehung von Kolonkarzinomen keine Wirkung zeigen und weitere Untersuchungen überflüssig sind. Die fehlende Wirkung von 13-cis-Retinsäure müßte an anderen Tumormodellen, in denen zum Beispiel andere Kanzerogene (wie DMH, Aflatoxin B_1) oder andere synthetische Retinoide verwendet werden, überprüft werden. Darüber hinaus ist nicht auszuschließen, daß ein veränderter Behandlungsmodus positive Ergebnisse bringt: in der Untersuchung von Ward u.a. wurde das Retinoid nach dem Kanzerogen gegeben. Es ist an tierexperimentell erzeugten Mammatumoren gezeigt worden, daß Retinoide auch während der Anwendung eines kanzerogenen Stoffes wirken können (150; siehe 5.2).

In verschiedenen anderen Tumormodellen konnte aber eine chemopräventive Wirkung von Retinoiden bestätigt werden. Sadek (208) untersuchte ägyptische Kröten (Bufo regularis), denen er einmal pro Woche 200 mg 3-Methylcholanthren pro kg KG in den dorsalen Lymphsack injizierte. Innerhalb von fünf Monaten entwickelten unter dieser Behandlung 18 von 44 Tieren Lebertumoren, die alle histologische Kriterien der Malignität zeigten. Zum Vergleich erhielten 45 Tiere jeweils gleichzeitig mit dem Kanzerogen 400 000 IU Vitamin A-Palmitat/kg KG in derselben Injektion (bei einem durchschnittlichen KG der Kröten von 50 g entspricht das 20 000 IU).

Dabei entwickelte nur ein Tier einen Lebertumor. Interessant ist, daß der im Vergleich zu den anderen Untersuchungen ungewöhnliche Behandlungsmodus mit einer hohen Dosis von Vitamin A erfolgreich war.

Chu und Malmgren (41) demonstrierten eine präventive Wirkung von Vitamin A an Tumoren von Magen und Zervix bei Goldhamstern. In ihrer sehr differenzierten Arbeit wurde den Tieren zweimal wöchentlich oral DMBA oder BP in verschiedensten Dosierungen gegeben. Bei gleichzeitiger oraler Gabe von Vitamin A-Palmitat (100 mg pro Tier und Woche) entwickelten sich innerhalb der Versuchsdauer signifikant weniger Karzinome des Gastrointestinaltraktes.
Zur Induktion von Zervixkarzinomen wurde der Gebärmutterhals anderer Tiere mit DMBA bepinselt; die Zugabe von Vitamin A-Lösung zu der Flüssigkeit, mit der diese Pinselung vorgenommen wurde, hemmte eindeutig die Entwicklung von Karzinomen der Zervix oder Vagina, hatte aber keinerlei Einfluß auf die Häufigkeit der gleichzeitig entstehenden Hauttumoren im Dammbereich. Eine in vitro-Reaktion zwischen dem Kanzerogen und Vitamin A mit daraus folgender Inaktivierung des Kanzerogens erscheint somit höchst unwahrscheinlich.

Das Pankreaskarzinom gehört beim Menschen zu den Karzinomen mit äußerst ungünstiger Prognose (80). Longnecker u.a. (134, 135) gaben Wistar/Lewis-Ratten in Gruppen von 25 Tieren 15 wöchentliche intraperitoneale Injektionen von jeweils 10 mg Azaserin pro kg KG. 42 % der Tiere entwickelten innerhalb der Versuchsdauer von einem Jahr Pankreaskarzinome. An diesem Modell wurde die Wirkung von vier verschiedenen synthetischen Retinoiden untersucht, wobei N-(2-Hydroxyethyl)-retinamid die besten Ergebnisse zeigte: nach der ein-

jährigen Gabe von 2 mmol dieses Retinoids pro kg Diät waren nur bei 6 % der Tiere Pankreaskarzinome zu finden.

Mit Hilfe des Elektronenmikroskops führten Shklar u.a. (231, 232) Beobachtungen an der Ultrastruktur von Tumoren der Mundschleimhaut durch. Die Zunge von Goldhamstern wurde dreimal wöchentlich mit einer 0,5 %-igen Lösung von DMBA bepinselt. Eine Gruppe erhielt gleichzeitig zweimal wöchentlich oral per Pipette jeweils 10 mg 13-cis-Retinsäure. Unter der Retinoidbehandlung entwickelten sich Leukoplakien und Karzinome wesentlich langsamer. Dem entsprach elektronenmikroskopisch eine deutlich bessere Differenzierung dieser Veränderungen.

Levij und Polliack (130) bepinselten die Backentaschen von Hamstern dreimal wöchentlich mit einer 0,5 %igen Lösung von DMBA. Eine Gruppe der Tiere wurde in gleicher Weise mit einer Kombination dieses Kanzerogens und 10 %iger Vitamin A-Lösung behandelt. Diese Kombination induzierte innerhalb von 12 Wochen signifikant mehr Karzinome als die alleinige Behandlung mit dem Kanzerogen. Die Autoren vermuteten, daß dies Folge einer Addition der kanzerogenen Wirkung von DMBA und der durch Vitamin A verursachten Schleimhauthyperplasie ist.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung werden in mehreren Übersichtsarbeiten (106, 171, 222, 244) als Argumente verwendet, die Möglichkeit einer chemopräventiven Anwendung von Retinoiden mit äußerster Skepsis zu betrachten. Es muß aber ausdrücklich betont werden, daß das Retinoid hier lokal angewendet wurde, und nicht systemisch, wie in fast allen beschriebenen Untersuchungen.

6. Die Kombination von Retinoiden mit anderen chemopräventiven Substanzen

Retinoide wirken im Tierversuch hemmend auf die chemisch induzierte Tumorentstehung. Durch Derivatisierung lassen sich Retinoide synthetisieren, die wirksam sind und geringe Toxizität haben (105). Dennoch haben alle bisher entwickelten Retinoide unerwünschte Nebenwirkungen, wenn sie chronisch in hohen Dosen verabreicht werden. Möglicherweise wird man keine Retinoide mit noch besserem therapeutischem Index finden. Dann werden die Nebenwirkungen dieser Präparate vielleicht der einzige Grund sein, von ihrer Anwendung in großem Umfang abzusehen. Eine weitere Verbesserung der Krebsbehandlung könnte aber durch eine kombinierte Anwendung verschiedener Agentien erreicht werden. Durch die Reduktion der notwendigen Einzeldosen werden die Nebenwirkungen der Einzelsubstanzen reduziert, während gleichzeitig eine Summierung der biologischen Wirkungen erzielt wird. Darüber hinaus kann eine solche Kombination auch einem breiteren Spektrum von Erkrankungen vorbeugen, wenn die einzelnen Wirkungskomponenten unterschiedliche Funktionen haben. Nötig sind hierzu alternative Methoden einer Chemoprävention, von denen in der Einleitung schon die Rede war.

6.1 Selen

Wie beschrieben (Abschnitt 5.2), kann Vitamin A-Acetat die Entstehung von Mammakarzinomen in mit MNU behandelten Ratten verhüten (256). Thompson und Becci (257) haben im identischen Tumormodell gezeigt, daß

ein Selenzusatz in der Nahrung ebenfalls eine chemopräventive Wirkung hat. Die Behandlung mit Vitamin A-Acetat beziehungsweise Selen wurde erst nach der Gabe des Kanzerogens begonnen. Aufgrund der äußeren Ähnlichkeiten in der Wirkung auf den Prozeß der Kanzerogenese, untersuchten Thompson u.a. (258) die Wirkung einer kombinierten Behandlung mit Vitamin A-Acetat und Selen, wiederum im gleichen tierexperimentellen Modell. Dabei gaben sie den Ratten 20 % weniger Selen (also 4 mg/kg Diät) und 10 % weniger Vitamin A-Acetat (also 300 mg/kg Diät) der sich in den früheren Untersuchungen als jeweils wirksam erwiesenen Dosen, um die Entwicklung toxischer Nebenwirkungen zu verringern. Die Kombination, die ab dem 7. Tag nach der einmaligen i.v. Injektion von 50 mg MNU gegeben wurde, verringerte den relativen Anteil der Tiere mit Tumoren (überwiegend Adenokarzinome) von 100 auf 68 % (bezogen auf jeweils 25 Tiere), die durchschnittliche Tumorzahl pro Ratte von 3,68 auf 1,72 und verlängerte signifikant die Latenzzeit bis zum Auftreten der ersten Tumoren.

Die Bewertung dieser Ergebnisse ist allerdings sehr problematisch, da noch keineswegs klar zu entscheiden ist, ob toxische (also nicht pharmakologische) Wirkungen für die Folgen dieser Behandlung verantwortlich sind. Zwar zeigten sich im Rahmen dieser Untersuchung bei einer Kontrollgruppe von Ratten, die nur Selen (und kein Kanzerogen) erhalten hatten, außer einer verminderten Nahrungsaufnahme keine toxischen Wirkungen, aber bei einer nur mit Vitamin A-Acetat behandelten Kontrollgruppe wurden pathologische Veränderungen an der Leber und eine noch geringere Gewichtszunahme als bei den mit Selen behandelten Tieren festgestellt. Diese Unterschiede der Gewichtszunahme waren allerdings so gering, daß sie nicht allein für die Hemmung der Tumorentstehung durch die Kombinationsbehandlung verant-

wortlich gemacht werden können. Es ist bei solchen Untersuchungen aber grundsätzlich immer zu bedenken, daß eine verminderte Nahrungsaufnahme die Entwicklung von Tumoren hemmen oder beschleunigen kann (174). Zusätzlich waren aber fibrotische Veränderungen an Ovar, Eileiter und Uterus zu beobachten. Wie sich gezeigt hat, kann eine chronische hormonelle Suppression die antineoplastische Wirkung von Vitamin A-Acetat steigern (282; siehe 6.2). Inwieweit dies bei der vorliegenden Untersuchung eine Rolle gespielt hat, kann nicht sicher bestimmt werden, zumal die mit der Kombination behandelten Tiere höchst variable anormale Zykluslängen zeigten (durchschnittliche Zykluslänge von 8,4 Tagen im Gegensatz zu 4,4 Tagen bei unbehandelten Tieren). Die Tiere, die dagegen nur mit einer der beiden Substanzen behandelt worden waren, zeigten einen normalen Zyklus während der gesamten Dauer der Untersuchung.

Die Wirkungen der beiden unterschiedlichen Behandlungsmethoden waren, rechnerisch betrachtet, additiv. Eine Interaktion von Selen mit Vitamin A-Acetat ist somit nicht wahrscheinlich. Nicht auszuschließen ist jedoch ein gemeinsamer Wirkungsmechanismus im weitesten Sinn, zum Beispiel ein stimulierender Effekt beider Substanzen auf das Immunsystem des Tieres. In weiteren Untersuchungen müssen die toxischen von den pharmakologischen Wirkungen einer solchen Behandlung besser abgegrenzt werden. Pathologische Veränderungen an der Leber, wie sie durch die Vitamin A-Acetat-Therapie verursacht wurden, dürften durch die Verwendung synthetischer Retinoide vermeidbar sein.

6.2 Prolaktinhemmer

Retinoide, die im Tierversuch zur Verhütung von Mammatumoren eingesetzt wurden, waren dann am wirksamsten, wenn sie kurz nach der Behandlung mit dem Kanzerogen gegeben wurden. Sie wirken also vor allem im Anfangsstadium nach der Gabe des Kanzerogens und sind so gut wie unwirksam, wenn sie den Tieren in einem fortgeschrittenen Stadium der Krankheit gegeben werden. Eine Kombinationstherapie könnte in diesem speziellen Fall sinnvoll sein.

Prolaktin scheint bei der Ratte eine wichtige Rolle für die Entwicklung der durch polyzyklische Kohlenwasserstoffe induzierten Mammatumoren zu spielen. Eine Unterdrückung dieses Hormons hat im Tierversuch zu einer starken Senkung der Tumorhäufigkeit geführt (167, 281, 284). Für durch die N-Nitroso-Verbindung MNU induzierte Tumoren gilt wahrscheinlich der gleiche Zusammenhang (203).
Welsch u.a. (282) untersuchten, ob Prolaktin auch für die Entwicklung von Karzinomen nach MNU-Gabe notwendig ist und ob eine chronische Prolaktinsuppression in Verbindung mit einer Retinoidbehandlung verbesserte Ergebnisse in der Prävention des Mammakarzinoms bei der Ratte liefert. Zur Hemmung der Prolaktinsekretion im Hypophysenvorderlappen wurden den Ratten in dieser Untersuchung einmal täglich 4 mg CB-154 pro kg KG subkutan injiziert. Prolaktin (syn. Luteotropes Hormon, LTH) ist ein im Hypophysenvorderlappen gebildetes Hormon, das die Hormonbildung im Corpus luteum unterhält und unter anderem auch für die Auslösung und Aufrechterhaltung der Laktation verantwortlich ist. CB-154 ist die Kurzbezeichnung für 2-Brom-α-ergocryptin (in Deutschland unter dem Warenzeichen Pravidel im Handel), das klinisch Anwendung findet zur Hemmung der Laktation, zur Behandlung prä-

menstrueller Beschwerden, der Akromegalie und der Parkinson'schen Krankheit. Die angewendete Dosis beträgt 2,5-100 mg/Tag.
Die Mammatumoren, die sich in dieser Untersuchung nach einmaliger i.v. Gabe von MNU (in einer niedrigen Dosis von 12,5 mg/kg KG oder in einer hohen Dosis von 25 mg/kg KG) entwickelten, waren histologisch überwiegend Adeno- oder papilläre Karzinome, das heißt solche, die besser den beim Menschen auftretenden entsprechen, als dies in früheren Untersuchungen mit polyzyklischen Kohlenwasserstoffen der Fall war (92).

Die Behandlung nur mit CB-154 führte dazu, daß die Zahl der Ratten mit Mammatumoren im Vergleich zu den nur mit dem Kanzerogen behandelten auf die Hälfte zurückging (die Gruppen dieser Untersuchung bestanden aus jeweils 30 Tieren). Die wichtige Rolle von Prolaktin in der Entwicklung von durch MNU ausgelösten Mammatumoren hat sich also bestätigt. Die hemmende Wirkung von CB-154 ist allerdings nur während der medikamentösen Behandlung zu beobachten. Die Autoren führen es auf eine Selektion der nicht prolaktinempfindlichen Tumoren zurück, daß der relative Anteil der Tiere mit Mammakarzinomen ungefähr zwei Wochen vor Ende der Behandlung (das heißt nach einer mindestens 70 Tage langen Suppression der Prolaktinsekretion) leicht zu steigen begann. Die Ergebnisse der Gruppe, bei der nur der Einfluß von Vitamin A-Acetat (328 mg/kg Diät) untersucht wurde, bestätigten die schon bekannte Wirkung dieses Retinoids auf die Entstehung von Mammatumoren im Rattenmodell (256). So sank in der Gruppe, die hochdosiert MNU erhalten hatte, der relative Anteil der Tiere mit Mammatumoren von 73 auf 37 %.

Die kombinierte Behandlung führte zu weit besseren Ergebnissen: die Entstehung von Tumoren war in der

Gruppe, die die niedrigere Dosis MNU erhalten hatte, vollkommen verhindert worden. Selbst bei den Tieren, die mit der höheren Dosis des Kanzerogens behandelt wurde, entwickelten nur 2 von 30 Tieren Mammatumoren, während in der gleich großen Kontrollgruppe 22 Tiere erkrankten. Nach dem Absetzen der kombinierten Behandlung entwickelten die Tiere jedoch innerhalb kurzer Zeit im gleichen Ausmaß Tumoren wie die nur mit MNU behandelten Kontrolltiere.

Bei einem Vergleich der Nebenwirkungen des Retinoids und des Sekretionshemmers schneidet CB-154 wesentlich besser ab: es ist ein Medikament mit einem spezifischen Angriffspunkt und hat in dieser Untersuchung keinerlei toxische Nebenwirkungen gezeigt. Bei den mit dem Retinoid behandelten Tieren konnten dagegen verschiedene Zeichen einer Gesundheitsschädlichkeit beobachtet werden: leichte Reduzierung der Gewichtszunahme, blasse Leber usw. Das Ausmaß der Auswirkungen dieser leichten Schäden auf die Tumorentstehung ist aber wahrscheinlich eher gering. Hiermit bestätigt sich wieder die Notwendigkeit einer Verwendung neuer synthetischer Retinoide. Die Bedeutung dieser ersten Arbeit, bei der die krebsprophylaktische Wirkung einer Retinoidbehandlung durch eine gleichzeitige Hormontherapie verbessert wurde, liegt vor allem darin, daß sie gezeigt hat, wie zwei grundsätzlich verschiedene Arten des Eingreifens in die Kanzerogenese bei gleichzeitiger Anwendung zu besseren Ergebnissen führen können. Für die Übertragung der - speziell in dieser Arbeit gefundenen - Ergebnisse auf den Menschen muß aber kritisch bemerkt werden, daß die Bedeutung des Prolaktins für den Brustkrebs der Frau sehr umstritten ist (14, 202).

6.3 Entzündungshemmende Steroide

Entzündungshemmende Steroide hemmen äußerst stark die tumor-promovierende Wirkung der Phorbolester (237), die den wirksamen Anteil des Krotonöls darstellen. Schon Mengen, die unter dem Mikrogrammbereich liegen, konnten im klassischen Behandlungsschema von Berenblum (beschrieben im Abschnitt 5.4) die Induktion von Hauttumoren bei der Maus hemmen. Auch Retinoide haben in diesem Tumormodell eine präventive Wirkung gezeigt (siehe Abschnitt 5.4). Weeks u.a. (278) wollten die Wirkung eines Vitamin A-Derivats, eines Steroids und einer kombinierten Behandlung mit beiden Stoffen in diesem System vergleichend untersuchen. Die Substanzen wurden jeweils gleichzeitig mit dem Promotor über die gesamte Zeitdauer der Promotion lokal gegeben. Jede Versuchsgruppe bestand aus 30 Tieren. Folgende Ergebnisse waren zu beobachten:

a) Die Gabe von Ro 10-9359 führte zu einem signifikanten dosisabhängigen Rückgang der Hautpapillombildung in zwei verschiedenen Mäusestämmen (CD-1- und Sencar-), die sich wesentlich in ihrer Bereitschaft unterscheiden, auf Kanzerogene mit der Bildung von Hauttumoren zu reagieren. Selbst bei der höchsten Dosis des Retinoids (jeweils 0,1 mg gleichzeitig mit dem Promotor) wurden keine toxischen Nebenwirkungen beobachtet, obwohl diese Dosis so effizient war, daß sie die Zahl der Hautpapillome auf weniger als 10 % der Kontrollgruppe senkte. Höhere intraperitoneale Dosen, die zur genaueren Bestimmung der Toxizität gegeben wurden, führten allerdings zu Lähmungserscheinungen. Daneben wurde beobachtet, daß die Wirkung des Retinoids reversibel war, das heißt nach Beendigung der Behandlung entwickelten sich wieder Papillome. Eine komplette Hemmung der

Entstehung von Tumoren ist mit dem Retinoid allein hier nicht zu erreichen.

b) Die lokale Gabe des entzündungshemmenden Steroids Fluocinolonacetonid bewirkte ebenfalls eine sehr effektive Hemmung der Papillombildung. Selbst bei den sehr niedrigen Einzelgaben von 10 ng (jeweils gleichzeitig mit dem Promotor) wurde die Papillombildung bei den CD-1-Mäusen um mehr als 80 % und bei den empfindlicheren Sencar-Mäusen um mehr als 25 % vermindert. Eine höhere, aber noch nicht toxische Dosis (Einzelgaben von 1 µg) führte bei den CD-1-Mäusen sogar zu einer vollständigen Hemmung der Tumorbildung, das heißt im beobachteten Zeitraum hatte keines der Tiere ein Papillom entwickelt.

c) Die kombinierte Behandlung, bei der sowohl das Retinoid als auch das Steroid niedriger dosiert gegeben wurden, führte zu einer deutlichen zusätzlichen Senkung der Tumorzahl, zum Teil (je nach Dosis) zu einer totalen Hemmung der Entstehung von Papillomen. So reichten schon 0,1 µg des Steroids und 1 µg des Retinoids bei den CD-1-Mäusen aus, daß keines der Tiere einen Tumor entwickelte, während in der unbehandelten Kontrollgruppe jedes Tier an durchschnittlich 6,4 Tumoren erkrankt war. Diese Untersuchung demonstriert in bemerkenswerter Weise die Vorteile, die eine kombinierte Behandlung haben kann: trotz weit geringerer Dosen konnten wesentlich verbesserte Ergebnisse erhalten werden.

Über den Wirkungsmechanismus der entzündungshemmenden Steroide werden in der Literatur Vermutungen angeboten, die den für die Retinoide entwickelten ähneln. Aus diesem Grund werden die wichtigsten darunter kurz zusammengefaßt:

1. Transformierte (maligne) Zellen sezernieren unter gewissen Versuchsbedingungen ein Enzym, welches das Plasminogen im Serum aktiviert. Dadurch wird Plasmin gebildet, ein Enzym, das Fibrin abbaut. Anscheinend wird diese Steigerung der fibrinolytischen Aktivität für gewisse mit der Transformation verbundene morphologische Veränderungen benötigt. Tumor-promovierende Stoffe induzieren diesen "Plasminogenaktivator", Steroide hemmen ihn (69, 265, 285).

2. Die DNA-Synthese, die durch Phorbolester in der Epidermis induziert wird, wird durch Steroide gehemmt (224, 234).

3. Es wurde nachgewiesen, daß Fluocinolonacetonid die Ornithindecarboxylaseaktivität, die durch eine Behandlung mit Phorbolestern stimuliert wird, noch weiter erhöht (132, 235). Paradoxerweise führt die Anwendung von Retinoiden zu einer Hemmung dieser Enzymaktivität (siehe Abschnitt 5.4), so daß dieser biochemische Parameter in diesem Zusammenhang entweder keine Rolle spielt oder aber die beiden Substanzen auf verschiedenem Weg ihre Wirkung ausüben.

7. Die Entwicklung neuer synthetischer Retinoide

Die bisher erfolgten tierexperimentellen Untersuchungen haben verdeutlicht, daß die zukünftige Forschung ihren Schwerpunkt in der Synthese neuer Retinoide mit verbesserten Eigenschaften haben muß. Allein in den Laboratorien von Hoffmann-La Roche & Co. AG sind bisher über 1000 Retinoide synthetisiert und biologisch getestet worden. Da es mehrere, sehr ausführliche Übersichtsartikel über den Zusammenhang von Struktur und Wirkung dieser neuen Verbindungen gibt (149, 244, 245, 248), wird hier auf eine Beschreibung der bisherigen Ergebnisse verzichtet, zumal nur sehr wenige dieser Verbindungen in vivo bezüglich möglicher präventiver Eigenschaften getestet worden sind. Erwähnenswert ist, daß sowohl die Veränderung der Ringstruktur, der Seitenkette oder der polaren Endgruppe der natürlichen Retinoide zu hochaktiven Verbindungen geführt hat (245). Dies verdeutlicht, was für eine Vielzahl von Möglichkeiten vorhanden ist, geeignetere Retinoide zu finden.

8. Therapeutische und präventive Anwendung beim Menschen

Im Gegensatz zu den tierexperimentellen Untersuchungen, bei denen vor allem die präventive Wirkung von Retinoiden in der Kanzerogenese untersucht wurde, ist klinisch überwiegend ihre therapeutische Wirkung geprüft worden. Dies ist deshalb von Interesse, weil sich hier ein grundsätzlich anderer Wirkungsmechanismus als bei anderen Therapiemethoden (Chirurgie, Strahlen- oder Zytostatikatherapie) abzeichnet. Positive Resultate haben sich dabei vor allem bei malignen Erkrankungen der Haut gezeigt: Bollag und Ott (17) behandelten Patienten mit Präkanzerosen und Basalzellkarzinomen der Haut lokal mit Vitamin A-Säure in Form einer 0,1- oder 0,3 %igen Salbe. Von 60 Patienten mit Präkanzerosen zeigten 27 partielle und 24 vollständige Regressionen der Veränderungen. Von 16 Basalzellkarzinomen wurde bei 10 eine teilweise und bei 5 eine vollständige Regression erzielt. Aufgrund dieser positiven Ergebnisse untersuchten Ryssel, Brunner und Bollag (206) bei 24 Patienten die systemische Wirkung der Vitamin A-Säure: bei 11 Patienten mit Leukoplakien im Mund- und Larynxbereich konnte ein therapeutischer Effekt erreicht werden bei einer oralen Erhaltungsdosis von 50 bis 100 mg/Tag über mehrere Monate hinweg. Bei 3 auswertbaren Fällen mit Basaliom kam es in 2 Fällen zur Rückbildung, die einmal vollständig war. Bei den Nebenwirkungen imponierten vor allem Kopfschmerzen, daneben Lippen- und Hautveränderungen. Veränderungen von Blutbild, Nieren- oder Leberfunktion traten nicht auf.

Positive Resultate konnten Evard und Bollag (68) mit derselben Behandlung auch an präneoplastischen Verän-

derungen anderer Schleimhäute erzielen; vor allem wurden Papillome der Harnblase positiv beeinflußt. Karzinome der Harnblase reagierten dagegen nicht auf die Gabe des Retinoids. Gleiche Ergebnisse wurden bei der oralen Anwendung von 13-cis-Retinsäure (191) und Etretinate, das auch unter dem Namen Ro 10-9359 bekannt ist, erzielt (24, 120). 13-cis-Retinsäure war zum Beispiel Patienten mit Basalzellkarzinomen in einer Dosis von 100 bis 500 mg pro Tag verabreicht worden. Nach vier Monaten war bei 16 % von 248 Karzinomen eine totale Regression zu beobachten, 65 % verkleinerten sich und 19 % blieben unverändert. Levine und Meyskens (131) behandelten zwei (!) Patienten mit metastasierendem Melanom lokal mit Vitamin A-Säure. Die Behandlung führte bei einem der Patienten zu einer vollständigen, beim anderen zu einer teilweisen Regression der eingetretenen Veränderungen.

Die Behandlung von Patienten mit malignen Erkrankungen anderer Organsysteme war bisher weniger erfolgreich, ist aber in wesentlich geringerem Umfang durchgeführt worden. Presant u.a. (197) untersuchten, ob 13-cis-Retinsäure den Myeloblastenschub bei Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie verzögern oder verhindern kann. 4 Patienten erhielten das Zytostatikum Busulfan und das Retinoid in einer Dosis von 2 mg pro kg KG und Tag, 3 Patienten nur Busulfan. Da zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieser Arbeit keiner der Patienten einen Blastenschub entwickelt hat, kann über die Wirkung des Retinoids noch keine Aussage gemacht werden. Sehr wichtig ist aber die Beobachtung, daß 13-cis-Retinsäure die akute Toxizität des Zytostatikums nicht erhöht hat, so daß die Durchführbarkeit einer solchen Kombination demonstriert wurde. Die endgültigen Ergebnisse dieser Untersuchung dürften trotz der kleinen Patientenzahl vor allem deshalb

interessant sein, weil sich gezeigt hat, daß Retinoide in vitro die Ausreifung menschlicher Leukämiezellen auslösen können (25, 107).

Cassidy u.a. (34) untersuchten die Aktivität von 13-cis-Retinsäure in der Behandlung von Patienten im fortgeschrittenen Stadium von Brust- (n=18), Hoden- (n=1), und Ovarialkrebs (n=7), mit hämatologischem Malignom (n=7) oder Melanom (n=9). Alle hatten auf die üblichen zytostatischen und/oder endokrinen Therapieverfahren nicht angesprochen. Die Dosis des Retinoids betrug zunächst 0,5 mg und wurde innerhalb eines Monats auf 8 mg·pro kg KG und Tag gesteigert, wenn nicht toxische Nebenwirkungen (trockene Haut und Schleimhäute, Konjunktivitis, Kopfschmerz) eine Reduzierung dieser Dosis notwendig machten. Bei keinem der Patienten konnte eine objektive Wirkung auf die maligne Grundkrankheit beobachtet werden. Wegen der kleinen Patientenzahl möchten die Autoren aus ihren Resultaten nur für die Behandlung des Mammakarzinoms den Schluß ziehen, daß die Gabe von 13-cis-Retinsäure im fortgeschrittenen Erkrankungsstadium nicht sinnvoll ist.

Rustin und Bagshawe (205) behandelten 24 Patienten mit soliden Tumoren im weit fortgeschrittenen Stadium, die auf konventionelle Behandlungsmethoden (inklusive Chemotherapie) keine Besserung zeigten. 7 Patienten hatten maligne Teratome, 4 Ovarialkarzinome, 3 metastasierende Melanome, der Rest verschiedene andere maligne Erkrankungen. Das aromatische Retinoid Etretinate (= Ro 10-9359) wurde zunächst in einer Dosis von 100 mg täglich gegeben. Wegen der eintretenden Nebenwirkungen (Dermatitis, Lippenentzündung, generalisierte Hautschuppung) wurde nach 14 Tagen auf eine Dosis von 25 bis 50 mg reduziert. Etretinate

war für diese Untersuchung gewählt worden, weil es bei einer Überdosierung Zeichen einer Hypervitaminose A macht, ohne die Leber zu schädigen (149).
Unter der Therapie starben 4 Patienten innerhalb der ersten zwei Wochen. Von den anderen 19, die mindestens vier Wochen behandelt werden konnten, schritt die Erkrankung bei 17 fort. Bei einem Patienten mit einem Adenokarzinom der Lunge und bei einem Patienten mit metastasierendem Melanom trat keine Veränderung der Größe ihrer Tumoren ein.
Meyskens u.a. (160) berichteten in einer vorläufigen kurzen Zusammenfassung nicht ganz so enttäuschende Ergebnisse über die Wirksamkeit einer Behandlung mit 13-cis-Retinsäure bei Patienten mit Krebs im fortgeschrittenen Stadium. Von 88 behandelten Patienten trat bei 11 eine Stabilisierung und bei 7 eine Besserung ihres Zustandes ein.

Die Bewertung solcher Phase-II-Studien, deren Aufgabe es ist, die antitumoröse Wirksamkeit einer Substanz quantitativ zu beurteilen, muß mit äußerster Vorsicht vorgenommen werden: eine solche Testung kann nur für eine gewählte Dosis und Therapieplanung bei ausgewählten Patienten mit bestimmten Erkrankungen Aussagen über Effektivität oder Ineffektivität dieser Therapie machen. Es ist also keine allgemeine Aussage über Wirksamkeit oder Unwirksamkeit einer Substanz möglich (27). Bei den erwähnten Untersuchungen ist zu beachten, daß überwiegend Patienten mit Krebs in sehr weit fortgeschrittenem Stadium behandelt wurden, die darüber hinaus mit allen üblichen Behandlungsmethoden vorbehandelt waren. Die Ergebnisse weiterer Untersuchungen müssen abgewartet werden, ehe die Bedeutung der Retinoide für die therapeutische Onkologie abgeschätzt werden kann. Sehr ausführliche Phase-I-Studien zur Erkennung der toxischen Nebenwirkungen der

verwendeten Retinoide sind bereits veröffentlicht worden (84, 116); von mehreren Autoren sind Arbeiten über Phase-II-Studien angekündigt (24, 84, 115, 116, 277).

Über eine präventive Anwendung von Retinoiden beim Menschen liegen noch weniger Daten vor. Dafür dürften vor allem die Probleme verantwortlich sein, die sich bei der Organisation und Realisation einer präventiven Studie ergeben (lange Dauer, große Patientenzahl, Probleme wegen der toxischen Nebenwirkungen, ethische Fragen). Eine solche Untersuchung ist für Ende 1978 angekündigt worden (93, 247). Dabei war geplant, die präventive Wirkung einer oralen Behandlung mit 13-cis-Retinsäure bei Freiwilligen zu erproben, die ein hohes Risiko haben, an Blasenkrebs zu erkranken. Vorgesehen war die Behandlung von Patienten, bei denen in den vergangenen sechs Monaten jeweils zwei histologisch nachgewiesene oberflächliche Blasenkarzinome (ohne Invasion der Muskulatur) entfernt worden waren. Diese Patienten haben ein außergewöhnlich hohes Risiko, an einem Rezidiv zu erkranken: 40 % erkranken während des ersten Jahres, 70 % innerhalb von zwei Jahren.
13-cis-Retinsäure wurde gewählt, weil sie sehr rasch mit dem Urin ausgeschieden wird und wahrscheinlich an keiner sonstigen Stelle des Körpers akkumuliert. Die Dosis sollte zu Beginn täglich 0,5 mg pro kg KG betragen und im Verlauf der Untersuchung auf 1 mg gesteigert werden. Die Autoren glauben, daß eine solche Behandlung fünf Jahre lang durchgeführt werden muß, ehe Aussagen über ihre Wirkung möglich sind. Damit sind 1983 die ersten Ergebnisse dieser Untersuchung zu erwarten. An anderen Forschungszentren sind weitere präventive Studien in Planung, die zum Beispiel die Wirkung von 13-cis-Retinsäure auf die

Entstehung von Lungenkrebs beziehungsweise von Tumoren des Mund- und Rachenraumes objektivieren sollen (95). Außerdem wird die Behandlung von Frauen erwogen, die einseitig an Brustkrebs erkrankt sind (164). Nach der operativen Entfernung ihres Tumors unterliegen diese Patientinnen einem sehr hohen Risiko, ein zweites Karzinom in der kontralateralen Brust zu entwickeln.

9. Wirkungen der Retinoide, die über das Immunsystem vermittelt werden

Die Immunologie ist derzeit Gegenstand enormer Forschungsanstrengungen im Rahmen der Onkologie und man erwartet auf diesem Gebiet noch wesentliche Fortschritte für die Therapie. Da sehr ausführlich die Möglichkeit diskutiert wird, daß Retinoide ihre Wirkungen auf Tumoren, zumindest teilweise, durch eine Beeinflussung des Immunsystems ausüben, sollen die wichtigsten Ergebnisse dargestellt werden.

Für die Bedeutung immunologischer Abwehrmechanismen bei Tumorerkrankungen sprechen mehrere Tatsachen:

Bei Patienten mit bestimmten genetisch bedingten Immunmangelerscheinungen erkranken bis zu 10 % an Krebs. Patienten mit einer transplantierten Niere, die immunsuppressiv behandelt wurden, erkranken etwa um den Faktor 100 häufiger an Krebs als die gleiche Altersgruppe der allgemeinen Bevölkerung. Karzinome, die histologisch reichlich mit lympho-histiozytären Zellen durchsetzt sind (zum Beispiel lymphozytenreiche Form des M. Hodgkin), haben eine günstigere Prognose (148, 272).

Voraussetzung für das Zustandekommen einer Tumorimmunität ist, daß an der Krebszelle "fremde" Eigenschaften vorhanden sind, das heißt von normalen Körperzellen abweichende Eigenschaften. Auf oder in Tumorzellen können Antigene, das heißt Substanzen, die einen Organismus zur Bildung von Antikörpern anregen, lokalisiert sein. Die sogenannten tumorassoziierten Antigene können sich sowohl auf der Zelloberfläche als auch im Zellinnern und im Kern befinden (79). Dieser Mechanismus der immunologischen Surveillance kann nur

wirksam werden, wenn die Tumorzelle durch solche Antigene als fremd erkannt und eliminiert wird. Tierexperimentelle Studien mit virusinduzierten Tumoren haben dieses Konzept weitgehend bestätigt. Allerdings ist bei Spontantumoren und insbesondere bei solchen, die zu einer Metastasierung führen, der Nachweis relevanter immunologischer Abwehrmechanismen in vivo nicht gelungen. Von einigen Autoren wird deshalb bestritten, daß die in vitro nachgewiesenen Immunreaktionen eine in vivo-Relevanz haben (273).

Wird Krebs unter dem immunologischen Gesichtspunkt betrachtet, erscheint er als Folge eines defekten Immunsystems, das seine Kontrollaufgaben nicht hinreichend zu erfüllen vermag (31). Beim Zutreffen dieser Theorie könnte es unter verschiedenen Gesichtspunkten sinnvoll und praktikabel sein, durch eine Stimulierung der Immunabwehr im Körper in das Krebsgeschehen einzugreifen:

1. Die Antigenität von Tumoren kann hoch, aber auch sehr gering sein. Das Wachstum sehr vieler Tumoren wird aus diesem Grund nur ungenügend durch das Immunsystem gehemmt. Durch die Unterstützung der physiologischen immunologischen Tumorantwort könnte das Tumorwachstum im Sinne einer Prävention oder Heilung verhindert werden.

2. Vielleicht können die Probleme überwunden werden, die sich insbesondere in der Krebschemotherapie aus der Immunsuppression durch Behandlung mit zytostatischen oder zytotoxischen Medikamenten ergeben (13).

3. Es könnte möglich werden, die relativ wenigen Tumorzellen, die zum Beispiel nach chirurgischer Behandlung, Bestrahlung oder Chemotherapie noch zurückgeblieben sind, zu beseitigen. Dies könnte eine vollständige Heilung vieler Patienten bedeuten.

Die Immunantwort ist spezifisch, das heißt selektiv auf das auslösende Antigen bezogen und sie führt zum Auftreten von spezifisch sensibilisierten Immunlymphozyten (= zelluläre Immunreaktion) oder zur Bildung von Antikörpern (= humorale Immunreaktion).

Das Immunsystem läßt sich aktivieren, indem der Patient (oder seine Lymphozyten in der Zellkultur) direkt den stimulierenden Antigenen ausgesetzt wird. Das können zum Beispiel tumorassoziierte Antigene sein (= aktive spezifische Immuntherapie) oder Antigene, die keine Beziehung zum Tumor haben (= aktive unspezifische Immuntherapie). Die bisher am häufigsten angewandte Immuntherapie, die Behandlung mit Bazillus Calmette-Guérin (BCG), ist eine solche unspezifische. Klinische Erfahrungen, zum Teil sehr positiver Art, liegen zum Beispiel schon für die Behandlung von Patienten mit malignen Melanomen vor (32). Aufgrund der sehr unangenehmen und gefährlichen Nebenwirkungen der BCG-Injektionen (Fieber, Leberfunktionsstörungen, anaphylaktischer Schock) wäre es wünschenswert, weitere Substanzen zu finden, die unspezifisch das Immunsystem des Menschen zu stimulieren vermögen und entweder BCG ersetzen können oder es zumindest ermöglichen, mit geringeren Mengen von BCG zu arbeiten.

9.1 Stimulation der humoralen Immunantwort durch Retinoide

Es gibt eine große Zahl von Untersuchungen, die zeigen, daß Versuchstiere nach einer Behandlung mit Vitamin A-Verbindungen auf lösliche und partikuläre Antigene mit einer gesteigerten humoralen Abwehr reagieren.

Dresser (61) zeigte, daß Retinol (das selbst keine Wirkung als Antigen hat) als Adjuvans wirken kann. Es kann zum Beispiel die Bildung von Antikörpern gegen Rindergammaglobulin induzieren. Auf dieses Protein reagieren Mäuse normalerweise nicht mit einer Immunantwort. Bei der Behandlung von Ratten mit Retinol, Retinal oder Retinsäure wurden qualitativ ähnliche Ergebnisse erzielt, während die Behandlung mit Vitamin A-Acetat und -Palmitat weniger erfolgreich war (36).
Retinol beziehungsweise Vitamin A-Palmitat stimulierten stark die Bildung von Antikörpern gegen verschiedene andere lösliche Proteine, wie zum Beispiel Rinderserumalbumin (1, 242) und Ovalbumin (6, 28, 49). Vitamin A-Palmitat führte in Mäusen zu einer gesteigerten humoralen Reaktion gegenüber Schaferythrozyten (49, 113), während eine Behandlung mit Retinsäure zu keinem Anstieg des Hämagglutinintiters führte (54). Retinal steigert die Hämolyse sensibilisierter Schaferythrozyten durch menschliches Kompliment (143, 187).

Die Retinoide wurden den Tieren in den einzelnen Untersuchungen auf sehr unterschiedlichen Wegen verabreicht: subkutan, intraperitoneal oder durch die Magensonde, wobei alle Methoden eine Steigerung der Antikörperproduktion bewirken konnten (70).

An dieser nachgewiesenen Wirkung der Retinoide scheint kein Zweifel zu bestehen; über den zugrundeliegenden Mechanismus läßt sich dagegen aus den bisherigen Ergebnissen nur schwer eine Aussage machen. Für die humorale Reaktion gegen Rinderserumalbumin und Schaferythrozyten scheint die Beteiligung von Makrophagen, T-Lymphozyten und B-Lymphozyten notwendig zu sein: in Mäusen, denen neonatal der Thymus entfernt worden war und die mit Antilymphozytenserum behandelt wurden und

daher keine T-Lymphozyten mehr besaßen, konnte die Antikörperbildung durch Retinol nicht gesteigert werden (1). Anscheinend sind T-Lymphozyten für die Stimulierung der Antikörperbildung durch Retinol notwendig, obwohl noch vollkommen unklar ist, auf welcher Stufe das Vitamin seine Wirkung ausübt. Man nimmt an, daß die Makrophagen das Antigen konzentrieren und dann den T-Zellen in einer veränderten Form mit besserer immunogener Potenz offerieren. Dies führt zu einer Proliferation von T-Zellen (den sogenannten Helfer-T-Zellen), die die B-Zellen wahrscheinlich durch eine geeignete Darbietung des Antigens zur Antikörperbildung veranlassen (1). Andererseits haben Dennert und Lotan (54) keine Stimulierung von Helfer-T-Zellen gefunden, als sie die Wirkung von Retinsäure auf die Immunantwort gegenüber Schaferythrozyten untersuchten.

Insgesamt gesehen ist der Mechanismus, durch den die humorale Immunantwort durch Vitamin A stimuliert wird, noch vollkommen unbekannt (138, 143). Vielleicht führen Retinoide zu einer Labilisierung von Lysosomen (49), wobei die Freisetzung deren proteolytischer Enzyme zu einem gesteigerten Antigenabbau und zu einer vermehrten Verarbeitung durch die Makrophagen führt.
Dresser (61) vermutet, daß freigesetzte lysosomale Enzyme die Zellteilung von Lymphozyten stimulieren. Geschieht dies, wenn Antigen vorhanden ist, resultiert eine verstärkte Immunantwort.

Erschwerend für eine Bewertung dieser Ergebnisse ist, daß die Retinoide in einem sehr weiten Dosierungsbereich verwendet wurden: von einer toxischen Dosis von 160 000 IU (242) bis zu einer sehr niedrigen Dosis von 4000 IU (49). In weitaus den meisten durchgeführten Untersuchungen wurden die Retinoide aber in relativ hohen, auf Dauer toxischen Dosen verabreicht.

Synthetische Verbindungen mit geringerer Toxizität sind so gut wie nicht verwandt worden. Weitere Untersuchungen in dieser Hinsicht sind wünschenswert.

9.2 Stimulation der zellvermittelten Immunität

Jurin und Tannock (113) untersuchten, wie sich Vitamin A-Injektionen bei weiblichen C57BL/6-Mäusen auf den Zeitpunkt der Transplantatabstoßung auswirkten. Den Tieren wurde Haut von isologen männlichen Tieren transplantiert. Eine fünf Tage lange Behandlung mit Vitamin A-Palmitat vor der Transplantation oder eine kürzere Behandlung danach, verkürzten die Zeit bis zur Abstoßung merklich.
Eine andere Untersuchung von Floersheim und Bollag (72) an C3H-Mäusen, denen homologes Material von CBA/H-Mäusen transplantiert wurde, brachte das gleiche Ergebnis: Eine Behandlung mit Vitamin A-Palmitat oder Retinsäure halbierte die Abstoßungszeit. Da autologe Transplantate auch unter einer identischen Vitaminbehandlung nicht abgestoßen wurden, kann die Verkürzung der Abstoßungszeit nicht auf eine unspezifische, toxische Wirkung des Retinoids zurückgeführt werden, sondern sehr wahrscheinlich auf eine Beeinflussung der zellvermittelten Immunität.

Sogar eine einzige subkutane Injektion von 150 µg Vitamin A-Palmitat, gleichzeitig mit dem Antigen (hier Schaferythrozyten) injiziert, führte schon drei Tage nach der Immunisierung zu einer verstärkten zellvermittelten Immunität, die durch die eintretende entzündliche Schwellung des Gewebes quantifiziert wurde (2). Bei der Injektion des Vitamins an einer Körperstelle,

die nicht in unmittelbarer Nähe der Stelle lag, wo das Antigen injiziert wurde, blieb die stimulierende Wirkung aus. Die lokalen Lymphknoten könnten somit ein wichtiger Wirkungsort von Vitamin A sein. Vielleicht steigert es den Influx zirkulierender Lymphozyten in den Parakortex der entsprechenden Lymphknoten und stimuliert dort die darauffolgende DNA-Synthese. So könnten wesentlich mehr immunologisch reaktive Zellen zur Verfügung gestellt werden, um mit dem Antigen zu reagieren; mit dem Resultat einer verstärkten zellvermittelten Immunität (62, 255).

Mehrere Untersuchungen (2, 136) zeigten, daß auch verschiedene synthetische Retinoide die zellvermittelte Immunität stimulieren können, so zum Beispiel 13-cis-Retinsäure (Ro 4-3780), Motretinide (Ro 11-1430) und andere. Einige dieser Verbindungen sind wesentlich weniger toxisch und haben einen besseren therapeutischen Quotienten als etwa Vitamin A-Palmitat. Für einen möglichen Einsatz beim Menschen zur Immunstimulation ist dies von wesentlicher Bedeutung.

Sehr problematisch ist bisher noch die richtige Dosierung der Retinoide. Retinsäure kann in niedrigen, nicht toxischen Dosen die zellvermittelte Immunität stimulieren, während hohe Dosen neben den allgemeinen toxischen Symptomen zu einer Immunsuppression führen (55, 136). Die optimale Dosis dieses Retinoids scheint sehr variabel zu sein: in einigen Untersuchungen war eine Dosis von 10 bis 100 µg optimal, in anderer schon suppressiv (zum Vergleich: der toxische Bereich beträgt bei der Maus 500 bis 1000 µg pro Tier). Die Ursache für diese Variation ist unbekannt (138).

9.3 Stimulierung der Antitumorimmunreaktion

Tannock u.a. (254) zeigten, daß Vitamin A-Palmitat zu einer signifikanten Reduktion der durchschnittlichen Bestrahlungsdosis führte, die notwendig war, um transplantierte Fibrosarkome in Mäusen am Wachstum zu hemmen. Keine Wirkung zeigte die Vitaminbehandlung in Mäusen, in denen das Immunsystem unterdrückt worden war, und bei Tieren, denen Mammakarzinome von sehr schwacher Antigenität transplantiert worden waren, so daß man annehmen muß, daß das Vitamin die Immunantwort gegen tumorassoziierte Antigene stimuliert hat. Die Reaktion gesunden Gewebes auf die Bestrahlung wurde durch eine vorherige Vitamin A-Gabe nicht beeinflußt. Es kann also ausgeschlossen werden, daß das Retinoid die normale Gewebereaktion, die nach einer Bestrahlung auftritt, verändert hat. Wenn das Immunsystem der Mäuse vor der Transplantation aktiv stimuliert wird, führt die Vitaminbehandlung zu einer Tumorabstoßung.

Sollte sich herausstellen, daß eine Retinoidbehandlung die Kinetik der Immunantwort unter einer Bestrahlung unmittelbar ändern kann, könnte dies Bedeutung für eine Anwendung beim Menschen bekommen. Im allgemeinen wird die Bestrahlung beim Menschen aber fraktioniert durchgeführt, so daß die Ergebnisse nicht auf den Menschen übertragen werden können (darüber hinaus wachsen Tumoren des Menschen wesentlich langsamer als transplantierte Mäusetumoren).

Wie diese Wirkung von Vitamin A zustande kommt, ist noch unbekannt. Es besteht aber die Möglichkeit, daß das Retinoid zu einer schnelleren Lysis der durch die Bestrahlung geschädigten Zellen führte. Dies könnte die Immunantwort des Wirts auf die Tumorzellen, die die Bestrahlung überlebt haben, stärker konzentrieren.

Eine kombinierte Behandlung mit BCG und Vitamin A-Palmitat führte bei Mäusen zu einer deutlichen Wachstumshemmung von Lewis-Lungenkarzinomen (123), desgleichen von transplantablen Sarkomen, die durch 3-Methylcholanthren induziert wurden (157). In den nicht mit Vitamin A behandelten Tieren wurde eine hundertfach höhere Konzentration von BCG benötigt, um die gleiche Wirkung wie in den behandelten Tieren zu erzielen. Interessant ist, daß die Vitamin A-Behandlung ohne gleichzeitige BCG-Gabe keine Wirkung auf die Tumorzahl oder das Wachstum hatte, das heißt Vitamin A verstärkt die immunologische Tumorsuppression, die durch eine Behandlung mit BCG erzielt werden kann.

Felix u.a. (71) zeigten erstmalig, daß die alleinige Behandlung mit Vitamin A das Wachstum und die Entwicklung von transplantierten Tumorzellen verhindern kann und daß diese Wirkung wahrscheinlich auf einer Steigerung der zellvermittelten Immunität beruht. Eine orale oder intraperitoneale Vorbehandlung mit Vitamin A-Palmitat hemmte das Wachstum von S91-Melanomen in BALB/c-Mäusen. Bei einem anderen Sarkom, das normalerweise die Immunantwort nicht stimuliert, zeigte die Vitaminbehandlung keine Wirkung. Mit der Gabe von Antilymphozytenserum konnte die Wirkung des Vitamins weitgehend aufgehoben werden.

Die immunologische Widerstandskraft in C3H/HeHa-Mäusen, die normalerweise sehr gering ist gegenüber einer Inokulation mit C3HBA-Tumorzellen, wurde durch einen Vitamin A-Zusatz in der Diät wesentlich erhöht, was sich an der Tumorhäufigkeit, Latenzzeit, Tumorgröße und Überlebenszeit der Tiere zeigte (255). Bei den behandelten Mäusen wurde eine Vergrößerung des

Thymus und eine Vermehrung der T-Lymphozyten beobachtet.

Bruley-Rosset u.a. (26) zeigten, daß eine langdauernde Behandlung mit Retinsäure (wöchentliche intraperitoneale Injektionen) von 18 Monate alten Mäusen mit einem schon insuffizienten Immunsystem die Entstehung von spontanen Tumoren verhüten kann.
Die Immunüberwachungstheorie geht davon aus, daß mit zunehmendem Alter die Leistungsfähigkeit des Immunsystems abnimmt und die Krebshäufigkeit zunimmt, weil Tumoren in der ersten Phase ihrer Entwicklung nicht vom Immunsystem eliminiert werden können.
Leider waren bei den hier untersuchten Tieren Zeichen einer Haut- und Lebertoxizität der Vitaminbehandlung zu beobachten, so daß möglicherweise eine direkte Toxizität der Retinsäure auf die Zellproliferation für die Hemmung des Tumorwachstums verantwortlich war.
Da aber eine Veränderung verschiedener Parameter des Immunsystems (zum Beispiel Aktivität von T-Zellen, Makrophagen, Killer-Zellen) nachgewiesen wurde, ist ein immunologischer Mechanismus wahrscheinlicher. Betont werden muß auch, daß in diesem Tiermodell vor allem Tumoren des lymphatischen Systems aufgetaucht sind, das heißt eine Verteilung vorlag, die nicht der beim Menschen vorkommenden entspricht.

Miksche u.a. (161) haben 9 Patienten mit metastasierenden, inoperablen Plattenepithelkarzinomen der Lunge mit Vitamin A-Palmitat oder 13-cis-Retinsäure behandelt. Während der sechzigwöchigen Behandlung wurde das Vitamin in sieben einzelnen Behandlungszyklen gegeben. Am Ende jedes einzelnen Zyklus konnte in allen Patienten folgendermaßen ein verbesserter Immunstatus nachgewiesen werden: Lymphozyten wurden mit dem Mitogen

Phythämagglutinin behandelt. Die Vitaminbehandlung führte zu einem stärkeren Anstieg der Lymphoblastenzahl; bei allen Patienten wurde eine verstärkte Immunreaktion vom verzögerten Typ durch den Kutantest nachgewiesen. Leider waren in dieser Arbeit aber keine Angaben darüber zu finden, wie sich die Therapie auf die Überlebenszeit der Patienten ausgewirkt hat.

10. Epidemiologische Ergebnisse

"... the best model for man is man. One cannot expect another species to duplicate everything that characterizes man; if it did, it would be a man."
Wie Hegsted (100) mit diesen Sätzen bemerkt, ist die Aussagekraft tierexperimenteller Untersuchungen begrenzt (193). Hauptziel jeglicher medizinischer Forschung ist, Möglichkeiten zu finden, wie Krankheitsprozesse beim Menschen verhindert werden können. Die Rolle epidemiologischer Untersuchungen geht aber darüber hinaus, nur die Substanzen und Mechanismen zu finden, die zum Beispiel für die maligne Umwandlung verschiedener Gewebe verantwortlich sind: wichtiger als die Erkenntnis, welche Bestandteile zum Beispiel des Zigarettenrauchs die ätiologisch entscheidende Rolle für die Entstehung des Bronchialkarzinoms spielen, ist die Einsicht, daß die Einschränkung des Zigarettenkonsums in der Bevölkerung zu einer Verringerung der Krebsmortalität führen kann.

Diejenigen Untersuchungen, die im Rahmen dieser Arbeit von Interesse sind, haben vor allem Ernährungsgewohnheiten untersucht. Der Versuch, beim Menschen Zusammenhänge zwischen Ernährungsfaktoren und dem Auftreten von Erkrankungen nachzuweisen, ist aber mit verschiedenen Schwierigkeiten verbunden:

1. In den Untersuchungen, die sich vor allem auf Bronchialkarzinome beziehen, muß die entscheidende Rolle, die das Zigarettenrauchen in deren Ätiologie spielt (59, 217), berücksichtigt werden. Dies erschwert die Bewertung anderer Faktoren.
2. Ein beträchtliches Problem stellt die Gewinnung zuverlässiger Daten über die Ernährungsgewohnheiten

der untersuchten Personen dar. Diese ändern sich nicht nur im Laufe der Jahre, sondern sind im allgemeinen auch nur schlecht aus der Erinnerung zurückzurufen. Obwohl damit die retrospektive Erhebung von Daten über die qualitativen, quantitativen und zeitlichen Aspekte der Ernährung beim Menschen stärker fehlergefährdet ist, bleiben die Beobachtungen am Menschen von großem Interesse.

10.1 Untersuchung von Ernährungsgewohnheiten

Mettlin u.a. (159) ermittelten retrospektiv die Ernährungs- und Rauchgewohnheiten von 292 männlichen Patienten, die an Bronchialkarzinomen erkrankt waren und von 801 Kontrollpatienten, die weder an Krebs noch an Krankheiten des Respirationstrakts erkrankt waren. Die Vitamin A-Aufnahme wurde geschätzt, indem die Patienten bei der Krankenhausaufnahme gefragt wurden, mit welcher Häufigkeit sie 21 verschiedene Nahrungsmittel ungefähr ein Jahr vor dem Auftreten der ersten Symptome zu sich genommen hatten. Mittels Computer wurde aus diesen Angaben für jede einzelne Person eine relative Zahl ermittelt, die der Vitamin A-Aufnahme in den vergangenen Jahren entsprechen sollte. Die Patienten mit Lungenkrebs hatten dabei statistisch weit weniger Vitamin A zu sich genommen als die Kontrollpersonen. Dieser Zusammenhang war bei den Männern, die stark geraucht hatten, am deutlichsten ausgeprägt (nur 8 der 292 Patienten mit Lungenkrebs hatten in ihrem Leben nie geraucht!). Bei denjenigen unter ihnen, die statistisch der Gruppe mit geringerer Vitamin A-Aufnahme zugerechnet wurden, war das relative Risiko, an Lungenkrebs zu erkranken, 2,4mal größer als das der Personen mit höherer Vitamin A-Auf-

nahme. In der Gruppe der über 60 Jahre alten starken Raucher war das relative Risiko der Patienten mit niedriger Vitaminaufnahme sogar 4mal so groß. Milch und Karotten sind wichtige Vitamin A-Quellen in der Nahrung (Karotten wegen ihres sehr hohen Vitamingehaltes und Milch wegen der großen Mengen, die eventuell täglich getrunken werden). Ihre Aufnahme wurde deshalb gesondert ausgewertet: bei den Patienten mit Lungenkrebs war das tägliche Glas Milch und der Konsum von Karotten sehr viel seltener auf dem Speisezettel zu finden. In methodisch gleicher Art wurde die Aufnahme von Fett, Proteinen, Vitamin C und Kohlehydraten untersucht, aber keine Unterschiede in der Häufigkeit von Krebserkrankungen gefunden, für die einer dieser Faktoren hätte verantwortlich gemacht werden können.

Ein Problem in der Bewertung der vorliegenden Arbeit liegt darin, daß die Kontrollgruppe aus kranken Patienten bestand, von denen ein Teil an Erkrankungen epithelialer Gewebe litt. Nach Meinung der Autoren wären die Zusammenhänge allerdings (im dargestellten Sinne) noch deutlicher gewesen, wenn gesunde Kontrollpersonen untersucht worden wären. Tatsächlich ist nicht auszuschließen, daß eine verminderte Vitamin A-Zufuhr in der Nahrung auch andere Krankheiten als Krebs beeinflußt. Dies wäre aber in weiteren Untersuchungen nachzuweisen.

Parallel zu ihrer epidemiologischen Erfassung von Lungenkrebspatienten, untersuchten Mettlin und Graham (158), ob Zusammenhänge zwischen der Aufnahme von Vitamin A und dem Auftreten von Blasenkrebs zu finden sind. Wie in der beschriebenen Untersuchung wurden retrospektiv die Ernährungs- und Rauchgewohnheiten sowie Angaben über die berufliche Exposition gegenüber Schadstoffen bei 569 Blasenkrebspatienten erfragt. Eine strukturgleiche

Kontrollgruppe von 1025 Patienten derselben Klinik, die nicht an Krebskrankheiten litten, wurde gleichermaßen behandelt. Auch diese Untersuchung zeigte für diejenigen der Patienten, die mehr und häufiger Vitamin A zu sich genommen hatten, ein wesentlich geringeres Risiko, an Blasenkrebs zu erkranken. Die Beschränkung der statistischen Untersuchung auf den Konsum von Milch und Karotten ergab denselben Zusammenhang. Zusätzlich ergab sich, daß starkes Rauchen und exzessives Kaffeetrinken jeweils das relative Risiko vergrößerten, an Blasenkrebs zu erkranken.

Bei einer weiteren Untersuchung von Graham u.a. (86) an 584 Patienten mit Karzinomen der Mundhöhle und 1222 Kontrollpersonen zeigte sich am selben Krankenhaus unter Verwendung derselben Methode kein Zusammenhang der Häufigkeit dieser Erkrankungen mit der früheren Aufnahme Vitamin A-reicher Kost. Dieses Ergebnis spricht dagegen, daß bei der Befragung systematische Fehler (zum Beispiel im Fragebogen, Voreingenommenheit der Interviewer usw.) gemacht wurden, die zu den oben dargestellten Ergebnissen geführt haben. Angesichts der sehr großen Zahl von untersuchten Personen sind die vorgelegten Ergebnisse sehr eindrucksvoll.

MacLennan u.a. (155) untersuchten diese Verhältnisse in einer bestimmten Bevölkerungsgruppe, dem chinesischen Bevölkerungsteil der Stadt Singapur, einem Volk, das für seine hohe Lungenkrebsinzidenz, insbesondere bei den Frauen, bekannt ist. Diese Bevölkerungsgruppe kommt ursprünglich aus Südostchina und besteht aus mehreren ethnischen Gruppen, die unterschiedliche chinesische Dialekte sprechen. Retrospektiv wurden bei 103 Lungenkrebspatientinnen und einer ungefähr gleich großen Kontrollgruppe die Rauch- und Ernährungsgewohnheiten, die berufliche Exposition, der kulturelle und wirtschaft-

liche Status erfragt. Für die untersuchten Personen, die in der Befragung einen nur geringen Konsum von grünem Gemüse angaben, ergab sich statistisch ein größeres relatives Risiko, an Lungenkrebs zu erkranken. Dafür könnte beispielsweise ein relativer Mangel an Vitamin A verantwortlich sein. Diese Schlußfolgerung der Autoren ist allerdings sehr fragwürdig, da die Ernährungsgewohnheiten nicht so differenziert erfragt wurden wie in anderen Untersuchungen. Zwar ist für grünes Gemüse der hohe Vitamin A-Gehalt typisch, dennoch ist nicht auszuschließen, daß andere Inhaltsstoffe (wie Vitamine, Spurenelemente und Ballaststoffe) für die gefundenen Ergebnisse die entscheidende Rolle spielen.

Diese retrospektiven Untersuchungsergebnisse basierten auf der subjektiven Erinnerung der untersuchten Personen, die natürlich sehr unzuverlässig ist (85, 88). Es gibt allerdings keinen Grund anzunehmen, daß sich Krebspatienten prinzipiell schlechter an den Konsum von Vitamin A-haltigen Nahrungsmitteln erinnern. Da die Interviewer dieser Untersuchungen die Diagnose der von ihnen befragten Personen nicht kannten, scheidet auch die Möglichkeit aus, daß sie absichtlich oder unbewußt bei den Kontrollpersonen durch eine intensivere Befragung häufigere Angaben über den Verzehr vitaminreicher Kost erhielten. Die Wiederbefragung von 99 Patienten aus der Untersuchung von Mettlin u.a. ergab nach 18 Monaten eine Übereinstimmung in 81,1 % der Antworten (159), so daß die Zuverlässigkeit dieser Fragemethode als recht hoch anzusehen ist.

Epidemiologische Untersuchungen können aber prinzipiell retrospektiv und prospektiv durchgeführt werden. Da prospektive Untersuchungen mit weniger Fehlern behaftet, und somit wesentlich aussagekräftiger sind, befragte Bjielke (15) im Jahre 1967 in Norwegen 8278 Männer nach

ihren Rauch- und Ernährungsgewohnheiten, wobei vor allem die Vitamin A-Aufnahme möglichst vollständig erfaßt werden sollte. Eine Vitamin A-Aufnahme wurde vor allem beim regelmäßigen Genuß von Gemüse (insbesondere Karotten), Milch und (in geringerem Ausmaß) von Eiern angenommen. Die Ergebnisse überführte der Computer in einen Index. Die 53 Fälle von Lungenkrebs, die in den Jahren 1968 bis 1973 in dieser Personengruppe aufgetreten sind, wurden statistisch untersucht, um Zusammenhänge mit den früher erhobenen Daten aufzuzeigen. Die Gruppen, die höhere Werte im Vitamin A-Index hatten, zeigten in allen Altersstufen eine geringere Lungenkrebshäufigkeit. Diese inverse Korrelation war auch bei der Unterteilung der untersuchten Personen nach der Zahl der täglich gerauchten Zigaretten vorzufinden. Eine deutliche Korrelation zwischen dem Ausmaß des Zigarettenrauchens und der Lungenkrebshäufigkeit wurde übrigens auch in dieser Untersuchung sowohl bei hoher als auch bei niedriger Vitamin A-Aufnahme bestätigt. Schließt man die Adenokarzinome bei der Bewertung dieser Studie aus, werden die Ergebnisse sogar noch akzentuiert: 14 der 19 Karzinome traten in der Gruppe mit dem niedrigeren Vitamin A-Index auf, die nur 32 % der untersuchten Population ausmachte, während nur 5 Karzinome in der weit größeren Gruppe der Männer mit hohem Vitamin A-Index (68 % der beobachteten Personen) vorkam. Obwohl die Gesamtzahl der beobachteten Lungenkrebsfälle relativ klein ist (53 Fälle), ist das Ausmaß der Korrelation und die Konsistenz innerhalb bestimmter Kategorien (Anzahl der Zigaretten/Alter des Patienten) beachtlich. Allerdings dürfte der vom Computer erstellte Vitamin A-Index seine Schwächen haben, da die Fragebogen nicht alle wichtigen Quellen des Vitamins erfaßt haben. Erstaunlich ist jedoch, daß der Anstieg des relativen Risikos für die Personen, die gewohnheitsmäßig wenig Vitamin A zu sich nahmen, in der-

selben Größenordnung lag, wie sie in mehreren anderen Untersuchungen gefunden wurde: Bjielke (15) gibt das relative Risiko mit 2,5 an, MacLennan u.a. (155) mit 2,23 und Mettlin u.a. (159) gehen von einem erhöhten Risiko von 2,4 aus.

Obwohl die erwähnten Untersuchungen zum Teil von einem recht umfangreichen Patientengut ausgingen, waren die Zahlen der untersuchten Krebspatienten nicht groß genug, um über einzelne Variablen genauere Aussagen machen zu können. Bei der Bewertung der Beeinflussung des relativen Risikos durch eine vermehrte Vitamin A-Aufnahme sind vor allem die oft beträchtlichen Unterschiede in den verschiedenen Alters- und Raucherkategorien verwirrend. Eine genauere Analyse anderer Risikofaktoren (genetische Unterschiede, Lebensraum, Arbeitsplatzbelastung) wäre in diesem Zusammenhang wünschenswert.

Eine Beziehung zwischen der Vitamin A-Aufnahme und dem Auftreten von Krebs wird vor allem bei Lungen- und Blasenkrebs vermutet. In beiden Fällen kann davon ausgegangen werden, daß das Rauchen in der Ätiologie dieser Erkrankungen eine entscheidende Rolle spielt (59, 162). In den dargestellten Untersuchungen war die Wirkung einer erhöhten Einnahme von Vitamin A bei den starken Rauchern am ausgeprägtesten. Dafür sind mehrere Erklärungen denkbar:

1. Da starke Raucher ein sehr hohes relatives Risiko haben, an Lungenkrebs zu erkranken, haben sie eine größere Chance, ihr relatives Risiko zu vermindern. Eine tatsächlich vorhandene Wirkung des Vitamins wäre dann bei ihnen am ausgeprägtesten zu beobachten.
2. Es besteht die Möglichkeit, daß Vitamin A die Aus-

wirkungen bestimmter einzelner kanzerogener Noxen, in diesem Fall Zigarettenrauch oder Bestandteile davon, sehr spezifisch beeinflußt, aber bei anderen keine Wirkung zeigt. Es waren keine epidemiologischen Arbeiten zu finden, die explizit untersuchten, wie Vitamin A auf die Konfrontation des Menschen mit anderen kanzerogenen Faktoren (wie zum Beispiel Strahlen, Asbest, Luftverschmutzung oder Alkohol) wirkt.

Die durch Interviews ermittelte Vitamin A-Aufnahme war vor allem auf den Genuß bestimmter Gemüsesorten bezogen. Die erhöhte Vitaminzufuhr bei den gesunden Kontrollpersonen ist dabei aber kein Beweis dafür, daß Vitamin A per se die Kanzerogenese beeinflußt. Andere Faktoren, die die entscheidende Rolle spielen, könnten sekundär vielleicht die Vitamin A-Aufnahme beeinflussen. Verschiedene Mechanismen sind denkbar, wobei die angeführten Überlegungen durchaus auch Gültigkeit haben können, wenn die Auswirkungen einer erhöhten Karotinzufuhr (siehe unten) diskutiert werden:

1. Wer viel Gemüse ißt (und damit viel Vitamin A zu sich nimmt), verzehrt vielleicht weniger Fleisch, tierisches Fett oder andere Nahrungsbestandteile. Ein Zusammenhang mit dem Prokopfverbrauch tierischer Fette wird für Dickdarm-, Brust- und Prostatakrebs vermutet (87, 88, 174, 236, 279); ein Zusammenhang mit Karzinomen anderer Organe (möglicherweise über einen veränderten Metabolismus chemischer Kanzerogene im Dickdarm) ist nicht auszuschließen.

2. Gemüse hat einen großen Anteil von Fasern (Zellulose, Pektin usw.). Es wird angenommen, daß eine faserreiche Nahrung zu einer kürzeren Transitzeit der Nahrung im Darm führt, was den Darmbakterien die Produktion kanzerogener Stoffe erschwert. Gleichzei-

tig wird die Gesamtmenge des Stuhls vergrößert, so daß die kanzerogenen Bestandteile den Darm in verdünnter Form passieren. Diese Hypothese dient vor allem zur Erklärung der Verzögerung des Entstehens von Kolonkarzinomen (87, 88, 96, 200, 236, 279, 287).

3. Gemüse, die reich an Vitamin A sind, enthalten möglicherweise andere Stoffe, die für die gefundenen Zusammenhänge verantwortlich sind, deren Bedeutung aber noch nicht erkannt ist und daher fälschlicherweise dem Vitamin A zugesprochen wird. Beispielsweise fanden Wattenberg u.a. (140, 275, 290), daß Rosenkohl und Brokkoli eine Aktivitätssteigerung der Benzo(a)pyrenhydroxylase induzieren, was zu einer Hemmung der Kanzerogenese führen kann. Indolderivate, die in diesen Gemüsesorten vorkommen, induzieren dieses Enzym sowohl in der Rattenleber als auch im Rattendarm. In Tieren, die mit Kanzerogenen wie BP oder DMBA behandelt worden waren, sank durch die Gabe dieser Indolderivate sowohl die Gesamthäufigkeit von Mamma- und Magenkarzinomen als auch die durchschnittliche Anzahl der Tumoren pro Tier. Graham u.a. (87) fanden bei der Befragung von 256 Patienten mit Dickdarmkrebs und 783 Kontrollpatienten ohne Krebs, daß der häufige Konsum der oben angeführten Gemüsesorten zu einem verminderten Risiko führt, an einem Kolonkarzinom zu erkranken.

In allen beschriebenen Untersuchungen der Ernährungsgewohnheiten wurde nur in beschränktem Umfang differenziert, ob vor allem Vitamin A (Retinol) oder Provitamin A (Karotin) eingenommen wurde. Nachträglich läßt sich dies nur schwer entscheiden, da die Aufnahme großer Mengen von Gemüse und Milch sowohl Retinol als auch Karotin liefert. Retinol kommt nur in einigen

wenigen Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs (Milch, Käse, Leber usw.) vor, während die Hauptquellen des Provitamins grüne Gemüse, Karotten und einige gelbe und rote Früchte sind. In weiteren epidemiologischen Studien müßte zum Beispiel genauer untersucht werden, ob viel Gemüse (= viel Provitamin A) oder viel Leber und Milch (= viel Retinol) konsumiert wurde.

Möglicherweise ist das Provitamin A entscheidend für die Verminderung des Krebsrisikos beim Menschen. Eine neue prospektive Untersuchung von Shekelle u.a. (230) stützt diese Vermutung. 2107 Männer im Alter zwischen 40 und 55 Jahren wurden in den Jahren 1957 und 1958 für diese Studie ausgewählt. Der von diesen Personen aufgenommene Nahrungsgehalt an Retinol und Karotin wurde bestimmt, indem sie sowohl zu Beginn der Untersuchung als auch ein Jahr später von zwei Diätassistenten nach den in den vergangenen 28 Tagen eingenommenen Getränken und Nahrungsmitteln befragt wurden. 1954 der 2107 Probanden konnten bezüglich der Entwicklung maligner Erkrankungen über die nächsten 19 Jahre beobachtet werden. Es zeigte sich, daß das Viertel der Versuchspersonen mit der niedrigsten Karotinaufnahme ein 7-8-fach erhöhtes Risiko hatte, an einem Lungenkarzinom zu erkranken. Dies galt sowohl bei Rauchern als auch bei Nichtrauchern. Für maligne Erkrankungen anderer Organe zeigte sich keine solche Korrelation. Die Aufnahme von Vitamin A oder anderer Nahrungsbestandteile stand in keiner Beziehung zum Risiko, an Lungenkrebs zu erkranken. Somit scheint allein der Mangel an Provitamin A für das erhöhte Erkrankungsrisiko verantwortlich zu sein. Der sehr lange Zeitraum der Untersuchung (19 Jahre) macht es sehr unwahrscheinlich, daß die niedrige Aufnahme des Provitamins Folge des Bestehens eines Karzinoms über lange Zeit sein könnte (56).

10.2 Vitamin A-Blutserumspiegel

Epidemiologische Untersuchungen können unter verschiedenen Gesichtspunkten durchgeführt werden. Wenn die in mehreren Arbeiten geäußerte Vermutung stimmen sollte, daß Menschen, die weniger Vitamin A zu sich nehmen, häufiger an Krebs bestimmter Organe erkranken, wäre zu erwarten, daß sich diese Befunde auch bei einer Untersuchung der Vitamin A-Spiegel im Blut bestätigen. Basu u.a. (8) untersuchten deshalb Patienten, die an einem Bronchialkarzinom erkrankt waren. Zum Vergleich wurden Blutproben von gesunden Kontrollpersonen und von Patienten mit nicht malignen Bronchialerkrankungen (zum Beispiel Bronchopneumonie, chron. Bronchitis) auf dieselbe Weise untersucht. Die 28 Patienten mit Bronchialkarzinomen hatten die niedrigsten Vitaminspiegel mit einem Durchschnittswert von 45,6 µg/100 ml Serum. Dieser Wert war signifikant niedriger als der der beiden Kontrollgruppen: die 10 Gesunden hatten einen Durchschnittswert von 68,4 µg/100 ml, die 9 Lungenkranken einen Wert von 64,3 µg/100 ml. Anzumerken ist, daß nach der international anerkannten Klassifikation der Vitamin A-Werte im Serum ein Wert zwischen 20 und 50 als normal und Werte unter 10 µg/100 ml als Vitamin A-Mangel zu betrachten sind (154). Die in der vorliegenden Arbeit bei den Lungenkrebspatienten gefundenen Werte sind somit definitionsgemäß als normal zu bezeichnen. Fraglich ist aber, ob diese Werte im Sinne einer Prävention maligner Neubildungen als optimal zu betrachten sind (279). Die Unterteilung der Patienten mit Karzinomen in drei Gruppen nach ihrer histologischen Diagnose ergab eine interessante Einschränkung: nur die Patienten, die entweder ein Plattenepithel- oder ein kleinzelliges Karzinom hatten, zeigten niedrigere Vitamin A-Spiegel; diejenigen, die an einem großzelligen, undifferenzierten Karzinom erkrankt waren,

hatten dagegen ähnliche Werte wie die Vergleichsgruppen. Da alle Krebspatienten unmittelbar vor der Untersuchung eine vergleichbare Nahrung erhalten hatten, und da zum Zeitpunkt der Untersuchung keiner der Patienten eine Operation, Bestrahlung oder Chemotherapie hinter sich hatte, ist es sehr unwahrscheinlich, daß die in den drei histologischen Gruppen gefundenen Unterschiede auf solche Faktoren (wie Ernährung, Medikamente usw.) zurückzuführen sind.

Eine weitere Untersuchung von Basu u.a. (7) an nur 35 Patienten mit Tumoren verschiedener Organe brachte andere Ergebnisse: Gehirntumorpatienten hatten eher hohe Vitamin A-Serumspiegel, Patienten mit Karzinomen des Gastro-Intestinaltrakts dagegen eher niedrigere. Da die Histologie der Erkrankungen (vor allem der Hirntumoren) nicht angegeben wurde, ist die Bewertung dieser Befunde schwierig.

Bei 1916 indischen Patienten mit Karzinomen der Mundhöhle wurde im Rahmen einer umfangreichen epidemiologischen Untersuchung von Wahi u.a. (276) in 76,2 % der Fälle niedrige Vitamin A-Spiegel (im Sinne eines Mangels) gefunden. Über die Ergebnisse einer Kontrollgruppe wurde nicht berichtet; es zeigte sich aber, daß das Risiko, an Krebs zu erkranken, eng mit einem schlechten sozialen Status korrelierte. Deshalb wurden die Resultate der Blutuntersuchungen von den Autoren auf die sehr schlechte Ernährungslage der untersuchten Patienten zurückgeführt und ein Zusammenhang mit den Krebserkrankungen als unwahrscheinlich erachtet. Dieser Einwand gilt vermutlich auch für die Arbeit von Clifford (48), der in Kenya bei 17 Patienten mit nasopharyngealen Karzinomen signifikant erniedrigte Vitamin A-Serumspiegel gefunden hat.

Atukorala u.a. (3) untersuchten bei 26 Lungenkrebspatienten die Konzentration von Vitamin A, Vitamin E, Zink und dem retinolbindenden Protein im Serum. Sie fanden einen signifikant niedrigeren Vitamin A-Spiegel im Serum als bei 10 gleichaltrigen Patienten mit nicht malignen Lungenerkrankungen. Da die Konzentration von Vitamin E (wie Vitamin A ein fettlösliches Vitamin) in beiden untersuchten Gruppen gleich war, kann man annehmen, daß die niedrigeren Vitamin A-Spiegel nicht Folge einer Malabsorption aufgrund des Tumors waren.

Vitamin A wird im Blut als Retinol, das heißt als Alkohol transportiert; an ein Trägerprotein gebunden, das retinolbindende Protein (RBP), das einen 1:1-Komplex mit Präalbumin bildet (83). Nach Smith (240) ist Zink an der Mobilisierung von Vitamin A aus der Leber beteiligt. In Tieren, die an Zinkmangel leiden, wurde eine erniedrigte Vitamin A-Konzentration im Serum trotz Vitamin A-reicher Diät nachgewiesen. Möglicherweise spielt Zink auch in der Synthese des RBP eine wichtige Rolle (Literaturübersicht in 240).

Von Davies (53) wurden bei Lungenkrebspatienten erniedrigte Serumzinkspiegel gefunden; Schwartz u.a. (223) wiesen in malignem Mammatumorgewebe eine höhere Zinkkonzentration als im gesunden umgebenden Brustdrüsengewebe nach. Verschiedene tierexperimentelle Untersuchungen (57, 75, 146) beschreiben eine Wachstumshemmung von Tumoren in Ratten, bei denen ein Zinkmangel vorhanden ist. Insgesamt sind somit die Ergebnisse bisher nur schwer in Einklang zu bringen (33).

Atukorala u.a. fanden bei den untersuchten Lungenkrebspatienten erniedrigte Serumkonzentrationen von RBP und Zink. Die Autoren halten es für möglich, daß eine primär niedrige Zinkserumkonzentration die Synthese von RBP reduziert und so die Mobilisierung von Vitamin A

aus der Leber hemmt. Die hier vorgestellte Theorie geht davon aus, daß ein schnell wachsendes Tumorgewebe den Zinkbedarf im Körper erhöht. Kann dieser nicht durch die Nahrung ausgeglichen werden, resultiert eine Verringerung der zirkulierenden Zinkmenge. Letztendlich ist somit vielleicht der Zinkmangel, der durch eine pathologische Absorption durch einen genügend großen Tumor entsteht, für den erniedrigten Vitamin A-Spiegel im Blut verantwortlich (siehe auch 210).

Die Untersuchungen, die einen niedrigen Vitamin A-Serumspiegel in Patienten mit malignen Erkrankungen nachgewiesen haben, konnten nicht die Frage "Ursache oder Wirkung?" beantworten: begünstigt ein niedriger Vitamin A-Blutspiegel die Entstehung von Karzinomen oder sind Karzinome für die niedrigen Blutspiegel verantwortlich zu machen? Kark u.a. (114) untersuchten Blutproben, die mindestens ein Jahr vor der Diagnose eines Karzinoms abgenommen worden waren: 1960-62 wurden im Rahmen einer großangelegten Studie zur Untersuchung kardiovaskulärer Risikofaktoren bei 3102 Personen Blutproben entnommen und die Seren eingefroren. 1976, das heißt nach 12-14 Jahren, wurden von 85 Personen, die in der Zwischenzeit an Krebs erkrankt waren und von 174 Kontrollpersonen (die nach Alter, Geschlecht und Rasse den kranken Patienten entsprachen) das gespeicherte Serum untersucht. In dieser prospektiven Untersuchung zeigten die Personen, die im Laufe der Studie an Krebs erkrankten, signifikant niedrigere Serumspiegel als die Kontrollpersonen (zu einem Zeitpunkt, der mindestens ein Jahr, im allgemeinen aber wesentlich länger vor dem Zeitpunkt der Diagnose lag). Da die meisten Erkrankungen solche epithelialer Gewebe waren und die absoluten Zahlen der Beteiligung einzelner Organe sehr klein waren, war eine Entscheidung, ob

Vitamin A nur bei Krebs epithelialer Lokalisation in erniedrigter Konzentration im Serum vorhanden ist, nicht möglich. Darüber hinaus war die Gesamtzahl der Krebspatienten zu klein, um statistische Aussagen über die Größenordnung der Zusammenhänge machen zu können.

In ganz ähnlicher Weise wie Kark u.a. führten Wald u. a. (270) an 16000 Männern eine prospektive Studie durch, deren erste Ergebnisse 1980 in einem vorläufigen Bericht veröffentlicht wurden. Zwischen 1975 und 1978 wurden die Blutproben entnommen und bis zur Untersuchung im April 1980 gelagert, wobei die Proben von 86 Männern, die in der Zwischenzeit an Krebs erkrankt waren, und die Proben von 172 nicht krebskranken Kontrollpersonen bezüglich ihrer Vitamin A-Konzentration verglichen wurden. Es zeigte sich wieder die Korrelation von niedriger Vitamin A-Serumkonzentration und erhöhtem relativen Risiko, an Krebs zu erkranken. Diese Beziehung war unabhängig vom Alter, Rauchverhalten und Serumcholesterinspiegel der Probanden.

Wie bei der Diskussion der Arbeiten, die Ernährungsgewohnheiten untersucht haben, stellt sich auch hier die Frage, ob nicht vielleicht das Provitamin die entscheidende Rolle für die vermuteten Zusammenhänge spielt. Nur in einigen wenigen Untersuchungen wurde parallel zum Retinolspiegel auch der Karotinspiegel im Serum bestimmt (zum Beispiel 3), wobei sich aber auch zeigte, daß der Karotinspiegel bei gesunden Kontrollpersonen höher war als bei Patienten mit Karzinomen. In Anbetracht der vorliegenden Ergebnisse sind weitere Untersuchungen nötig, die auch das Provitamin berücksichtigen. Peto u.a. (192) schlagen vor, vor allem Patienten mit kleinen Tumoren zu untersuchen, bei denen es unwahrscheinlich ist, daß diese Neopla-

sien in der Vergangenheit bereits eine wesentliche Wirkung auf die Ernährung oder den Stoffwechsel des Patienten hatten. Darüber hinaus könnten Patienten untersucht werden, die kurz zuvor von einem bösartigen Tumor geheilt worden sind.

Trotz der diskutierten Probleme ist die Liste der Ergebnisse eindrucksvoll, wenn man bedenkt, daß in keiner Arbeit Argumente gefunden werden können, die gegen eine hemmende Wirkung von Vitamin A oder Karotin auf die Krebsentstehung in bestimmten Organen sprechen. Insgesamt ist nicht auszuschließen, daß zukünftige Untersuchungen zeigen werden, daß beide Stoffe eine schützende Wirkung gegen Tumoren haben. Sollte sich aber zeigen, daß ein höherer Retinolspiegel im Blut vor Krebs schützen kann, würde das keine unmittelbaren praktischen Konsequenzen haben, da in den Ländern, in denen normalerweise keine Mangelernährung vorkommt, ein vermehrter (nicht exzessiver) Konsum von Karotin oder Retinol zwar zu einer deutlichen Konzentrationserhöhung in der Leber, aber zu keiner wesentlichen Veränderung des Serumretinolspiegels führt (64, 125). Sollten sich die vermuteten Zusammenhänge bestätigen, müßten dann also zunächst die verschiedenen Determinanten des Serumretinolspiegels bestimmt werden. Solche hormonale oder andere äußere Faktoren sind zum Teil schon bekannt: die kontinuierliche Einnahme oraler Kontrazeptiva führt zu einem höheren Retinolspiegel im Blut (76), Zinkmangel zu einem erniedrigten (240).

Andererseits haben nicht wenige Untersuchungen die Vermutung gestützt, daß die überdurchschnittliche Aufnahme von Provitamin A zu einer geringeren Krebshäufigkeit führt. Peto u.a. (192) halten die Widerlegung dieses Zusammenhangs für so unwahrscheinlich, daß sie mit Nachdruck die Durchführung einer kontrollierten Studie

am Menschen fordern, um so mehr, als eine solche Untersuchung nahezu risikolos durchgeführt werden könnte. Die Hyperkarotinose ist mit ziemlicher Sicherheit vollkommen harmlos (81); eine Hypervitaminose A könnte somit vermieden werden. Karotin sollte dabei so hoch dosiert werden, daß noch keine Hautverfärbung eintritt. Die für diese Studie eintretenden Wissenschaftler glauben, daß sich dabei schon innerhalb von 5 Jahren signifikante Wirkungen zeigen würden, da sie davon ausgehen, daß Karotin im fortgeschrittenen Stadium (Promotion) der Kanzerogenese wirkt. Ihrer Meinung nach sollten vor allem über 50 Jahre alte Personen an der Studie teilnehmen, da bei jüngeren (wegen des selteneren Auftretens von Krebserkrankungen) eine zu große Zahl von Probanden nötig wäre, um statistisch signifikante Aussagen zu erhalten. Interessante Ergebnisse wären auch dann zu erwarten, wenn Patienten mit einem hohen Krebsrisiko oder mit einem unterdurchschnittlichen Serumretinol- oder Karotinspiegel untersucht würden.

Die Frage, ob β-Karotin oder andere Karotinoide in der Nahrung das Krebsrisiko beeinflussen, ist bei weitem nicht mit der gleichen experimentellen Aufmerksamkeit untersucht worden, die den Retinoiden geschenkt wurde (145, 226). Dabei müssen aber mehrere Möglichkeiten eines biologischen Zusammenhangs in Erwägung gezogen werden:

1. Karotinoide haben möglicherweise einen direkten, retinoidähnlichen Effekt auf die zelluläre Differenzierung in den Geweben.

2. Karotinoide werden vielleicht in den Geweben, wo sie eine Wirkung zeigen, in Moleküle umgewandelt, die entweder selbst mit den Retinoiden strukturelle Ähnlichkeit haben oder retinoidähnliche Wirkungen ausüben können.

3. Es ist denkbar, daß Karotinoide auf die Gewebe über Mechanismen wirken, die in keinem Zusammenhang mit der Kontrolle der zellulären Differenzierung stehen (zum Beispiel eine immunologische Wirkung). Karotinoide könnten etwa wirken, indem sie molekularen Sauerstoff beseitigen, der als giftiges Nebenprodukt bei vielen Stoffwechselprozessen in Tieren und Pflanzen entsteht. Für ß-Karotin ist in dieser Hinsicht eine starke Wirksamkeit nachgewiesen (144). Wahrscheinlich ist die Hauptrolle der Karotinoide in den Pflanzen die Entfernung des molekularen Sauerstoffs, der bei der Photosynthese entsteht (118).

Diese Probleme werden noch genauer untersucht werden müssen. Desgleichen wird es notwendig sein, die Wirkung von Karotin auf die Entstehung von Tumoren im Tierexperiment differenzierter zu untersuchen, wie dies bei den Retinoiden in großem Umfang bereits geschehen ist.

11. ZUSAMMENFASSUNG

In der Prävention der Entstehung maligner Tumoren zeichnet sich ein grundsätzlich neuer Ansatzpunkt ab: für eine sehr große Zahl chemisch völlig verschiedener Substanzen wird angenommen, daß sie die chemisch induzierte Kanzerogenese hemmen können. Wegen der sehr großen Zahl durchgeführter Untersuchungen eignet sich die Substanzklasse der Retinoide (das heißt die natürlich vorkommenden Vitamin A-Verbindungen und deren synthetische Derivate) für eine beispielhafte Darstellung dieses neuen Prinzips.

Von den beim Menschen vorkommenden malignen Tumoren sind 80 bis 90 % epithelialen Ursprungs. Es konnte in vivo und in vitro nachgewiesen werden, daß die Retinoide in der Kontrolle der normalen Differenzierung dieser epithelialen Gewebe.eine entscheidende Rolle spielen.
In Organkulturen der Prostata und Trachea werden hyperplastische und anaplastische Veränderungen des Epithels, die durch chemische Kanzerogene verursacht sind, durch die Zugabe von Retinoiden beseitigt. Damit konnte gezeigt werden, daß Retinoide die Reparatur oder Elimination potentiell maligner Veränderungen induzieren können. Eine antikanzerogene Wirkung von Retinoiden hängt somit möglicherweise von ihrer physiologischen Fähigkeit ab, die Zelldifferenzierung zu kontrollieren. Daneben ist eine Wirkung über die Beeinflussung des Immunsystems denkbar: eine Stimulation sowohl der humoralen als auch der zellvermittelten Immunität wurde in vivo demonstriert.

Für die Wirkung der Retinoide auf ihre Zielgewebe sind vermutlich spezifische intrazelluläre Proteine von er-

heblicher Bedeutung. Ein retinol- und ein retinsäurebindendes Protein sind in sehr vielen gesunden und malignen Geweben in äußerst unterschiedlichen Verteilungsmustern nachgewiesen worden. Die Vermutung, aus der Konzentration dieser Proteine eine Aussage über den Malignitätsgrad von Geweben machen zu können, hat sich nicht bestätigt.

Mehrere Retinoide haben im Tierversuch eine merkliche "chemopräventive" Wirkung gegen experimentell durch chemische Kanzerogene induzierte Harnblasen-, Mamma- und Hauttumoren. Nur in einzelnen Arbeiten wurde über eine hemmende Wirkung von Retinoiden auf die Entstehung von Leber-, Magen-, Zervix-, Pankreas- und Mundschleimhauttumoren berichtet. Die unter sehr verschiedenen Bedingungen durchgeführten Versuche an Tumoren des Respirationstrakts haben widersprüchliche Ergebnisse erbracht. Eine Kombination von Retinoiden mit anderen "chemopräventiven" Substanzen (zum Beispiel Selen, Prolaktinhemmer, entzündungshemmende Steroide) hat im Tierversuch zu verbesserten Ergebnissen geführt. In diesen Arbeiten haben sich natürliche Retinoide wegen ihrer Toxizität nur als beschränkt tauglich erwiesen. Mehrere synthetische Retinoide, die weniger toxisch und deutlich wirksamer in der Verhütung von Krebs bei Tieren sind, wurden bereits gefunden. Dennoch ist die Synthese von Verbindungen mit noch besseren Eigenschaften wünschenswert.

Klinisch-therapeutisch zeigten sich positive Resultate bei systemischer oder lokaler Anwendung von Retinoiden bei malignen Erkrankungen der Haut. Eine sehr kleine Zahl von Patienten mit Tumoren anderer Organe ist - allerdings in einem weit fortgeschrittenen Erkrankungsstadium - mit nur geringem Erfolg mit synthetischen Retinoiden behandelt worden. Noch weniger Daten liegen

über eine präventive Anwendung von Retinoiden beim Menschen vor. Mehrere solche Untersuchungen sind aber angekündigt.

Epidemiologische Untersuchungen haben für Personen, die wenig Vitamin A-reiche Nahrungsmittel konsumieren, ein erhöhtes relatives Risiko gefunden, an Lungen- oder Blasenkrebs zu erkranken. Mehrere Studien, zum Teil mit einer sehr großen Zahl von Probanden, zeigten eine deutliche Korrelation von niedriger Vitamin A-Serumkonzentration und erhöhtem relativem Risiko, an Krebs zu erkranken. Diskutiert wird, welche Rolle das Provitamin A beim Zustandekommen dieser Resultate spielt.

In Anbetracht der Tatsache, daß unter äußerst unterschiedlichen Gesichtspunkten eine so große Zahl vielversprechender Ergebnisse gefunden wurde, verdienen die Retinoide in der Onkologie weitere Aufmerksamkeit, obwohl eine generelle Anwendbarkeit beim Menschen in naher Zukunft noch nicht zu erwarten ist.

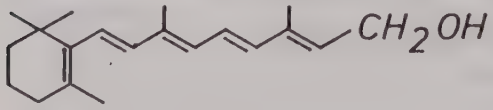
12. ANHANG

12.1 Abkürzungsverzeichnis

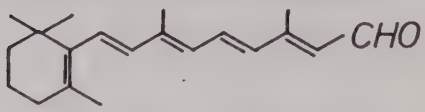
AFB_1	Aflatoxin B_1
BP	Benzo(a)pyren
DMBA	7,12-Dimethylbenz(a)anthracen
DMH	1,2 -Dimethylhydrazin
FANFT	N-(4-(5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl)-formamid
MCA	3-Methylcholanthren
MNU	N-Nitrosomethylharnstoff
ODC	Ornithindecarboxylase
OH-BBN	N-Nitroso-(4-hydroxy-n-butyl)-butylamin
RA	Vitamin A-Acetat
RABP	retinsäurebindendes Protein
RBP	retinolbindendes Protein
TPA	12-O-Tetradecanoyl-phorbol-13-acetat

12.2 Formeln der erwähnten Retinoide

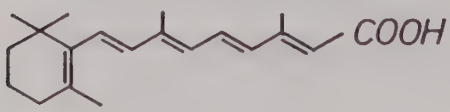
Vitamin A-Alkohol = Retinol = Vitamin A



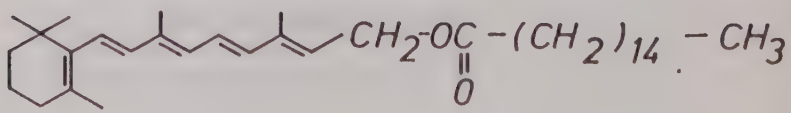
Retinal = Vitamin A-Aldehyd



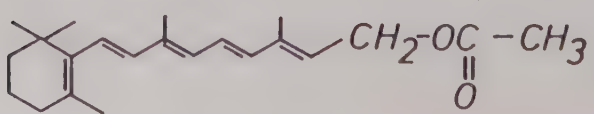
Retinsäure = Vitamin A-Säure



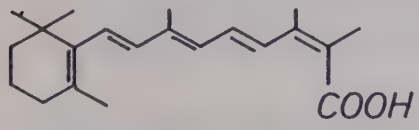
Vitamin A-Palmitat



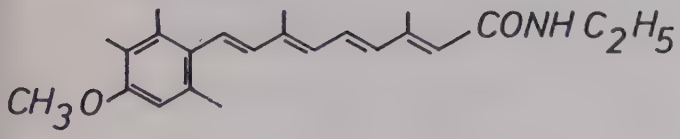
Vitamin A-Acetat



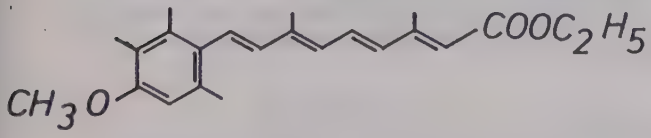
13-cis-Retinsäure = Isotretinoin = Ro 4-3780
= ROACCUTAN (in den USA)



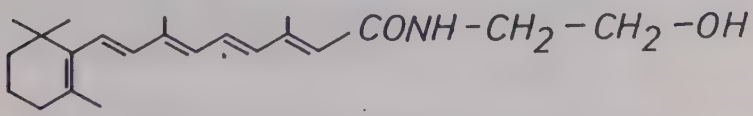
Ro 11-1430



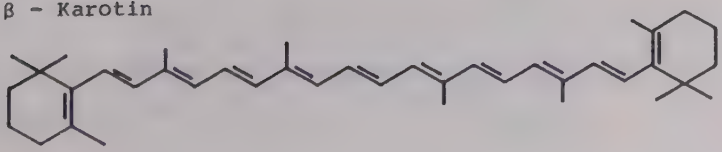
Ro 10-9359 = Etretinate = TIGASON (in Deutschland)



N-(2-Hydroxyethyl)retinamid



β - Karotin



13. LITERATURVERZEICHNIS

1. Allison, A.C., Davies, A.Y.S.:
Requirement of thymus-dependent lymphocytes for potentiation by adjuvants of antibody formation.
Nature 233, 330-332 (1971)

2. Athanassiades T.J.:
Adjuvant effect of vitamin A palmitate and analogs on cell-mediated immunity.
J. Natl. Cancer Inst. 67, 1153-1156 (1981)

3. Atukorala S., Basu T.K, Dickerson J.W.T., Donaldson, D., Sakula, A.:
Vitamin A, zinc and lung cancer.
Br. J. Cancer 40, 927-931 (1979)

4. Bahnson, C.B.:
Das Krebsproblem in psychosomatischer Dimension. In: Uexküll, T. (Hrsg.):
Lehrbuch der psychosomatischen Medizin. Urban und Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore (1979) S. 685-698

5. Bammer, K.:
Krebs und Psychosomatik.
Verlag W. Kohlhammer, Stuttgart-Berlin-Köln-Mainz (1981)

6. Barnett, J.B., Bryant, R.L.:
Adjuvant and immunosuppressive effects of retinol and Tween 80 on IgG production in mice.
Int. Archs. Allergy. appl. Immun. 63, 145-152, (1980)

7. Basu, T.K., Raven, R.W., Dickerson, J.W.T., Williams, D.C.:
Vitamin A nutrition and its relationship with plasma cholesterol level in the patients with cancer.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 44, 14-18 (1974)

8. Basu, T.K., Donaldson, D., Jenner, M., Williams, D.C., Sakula, A.:
Plasma vitamin A in patients with bronchial carcinoma.
Br. J. Cancer 33, 119-121 (1976)

9. Bausch, J., Glatzle, D., Hornig, D., Weber, F.: Stoffwechsel der Vitamine, Provitamine und Antivitamine. In: Cremer, H.D., Hötzel, D. Kühnau, J. (Hrsg.): Biochemie und Physiologie der Ernährung. Thieme Verlag, Stuttgart-New York, Band I, Teil 2, S. 378-380 (1980)

10. Becci, P.J., Thompson, H.J., Grubbs, C.J., Squire, R.A., Brown, C.C., Sporn, M.B., Moon, R.C.: Inhibitory effect of 13-cis-retinoic acid on urinary bladder carcinogenesis induced in C57BL/6 mice by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine. Cancer Res. 38, 4463-4466 (1978)

11. Becci, P.J., Thompson, H.J., Grubbs, C.J., Brown, C.C., Moon, R.C.: Effect of delay in administration of 13-cis-retinoic acid on the inhibition of urinary bladder carcinogenesis in the rat. Cancer Res. 39, 3141-3144 (1979)

12. Becci, P.J., Thompson, H.J., Strum, J.M., Brown, C.C., Sporn, M.B., Moon, R.C.: N-butyl-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced urinary bladder cancer in C57BL/6-DBA/2F_1 mice as a useful model for study of chemoprevention of cancer with retinoids. Cancer Res. 41, 927-932, (1981)

13. Begemann, H.: Der fundamentale Widerspruch der zytostatischen Krebsbehandlung. Med. Klinik 76, 663 (Nr. 24), (1981)

14. Bird, C.E., Owen, C.S., Sterns, E.E., Clark, A.F.: Plasma concentrations of C-19 steroids, estrogens, FSH, LH and prolactin in post-menopausal women with and without breast cancer. Oncology 38, 365-368 (1981)

15. Bjelke, E.: Dietary vitamin A and human lung cancer. Int. J. Cancer 15, 561-565 (1975)

16. Bohle, A.: Niere und harnableitende Organe. In: Eder, M., Gedigk, P. (Hrsg.): Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie. 30. Auflage, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1977), S. 643-675

17. Bollag, W., Ott, F.:
Vitamin-A-Säure in der Tumortherapie.
Lokalbehandlung von Präkanzerosen und Basalzellkarzinomen der Haut mit Vitamin A-Säure,
Schweiz. med. Wschr. 101, 17-18 (1971)

18. Bollag, W.:
Vitamin A-Säure in der Tumortherapie.
Tierexperimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Vitamin A-Säure auf Tumoren.
Schweiz. med. Wschr. 101, 11-17 (1971)

19. Bollag, W.:
Therapy of chemically induced skin tumors of mice with vitamin A palmitate and vitamin A acid.
Experientia 27, 90-92 (1971)

20. Bollag, W.:
Prophylaxis of chemically induced papillomas and carcinomas of mouse skin by vitamin A-acid.
Experientia 28, 1219-1220 (1972)

21. Bollag, W.:
Therapeutic effects of an aromatic retinoic acid analog on chemically induced skin papillomas and carcinomas of mice.
Europ. J. Cancer 10, 731-727 (1974)

22. Bollag, W.:
Prophylaxis of chemically induced epithelial tumors with an aromatic retinoic acid analog (Ro 10-9359).
Europ. J. Cancer 11, 721-724 (1975)

23. Bollag, W.:
Therapy of epithelial tumors with an aromatic retinoic acid analog.
Chemotherapy 21, 236-247 (1975)

24. Bollag, W., Matter, A.:
From vitamin A to retinoids in experimental and clinical oncology: achievements, failures, and outlook.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 359, 9-23 (1981)

25. Breitman, T.R., Selonick, S.E., Collins, S.J.:
Induction of differentiation of the human promyelocytic leukemia cell line (HL-60) by retinoic acid.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 2936-2940 (1980)

26. Bruley-Rosset, M., Hercend, T., Martinez, J., Rappaport, H., Mathé, G.:
Prevention of spontaneous tumors of aged mice by immunopharmacologic manipulation: study of immune antitumor mechanisms.
J. Natl. Cancer Inst. 66, 1113-1119 (1981)

27. Bruntsch, U.:
Entwicklung und Erprobung neuer Medikamente in der Onkologie.
Münch. med. Wschr. 124, 356-360 (1982)

28. Bryant, R.L., Barnett, J.B.:
Adjuvant properties of retinol on IgE production in mice.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 59, 69-74, (1979)

29. Büchner, F., Grundmann, E.:
Lehrbuch der speziellen Pathologie.
6. Auflage, Urban und Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore (1979)

30. Burchenal, J.H., Oettgen, H.F. (Hrsg.):
Cancer: achievements, challenges, and prospects for the 1980s.
Grune & Stratton, New York/Academic Press, London (1981)

31. Burnet, F.M.:
The concept of Immunological surveillance.
Progr. exp. Tumor Res. 13, 1-27 (1970)

32. Camacho, F., Pinsky, C., Krown, S., Hirshaut, Y., Oettgen, H.:
Oral administration of BCG in 26 patients with metastatic malignant melanoma.
Proc. Am. Assoc. Cancer, Res. 20, 116 (1979)

33. Capel, I.D., Pinnock, M.H., Williams, D.C., Hanham, I.W.F.:
The serum levels of some trace and bulk elements in cancer patients.
Oncology 39, 38-41 (1982)

34. Cassidy, J., Lippman, M., Lacroix, A., Peck, G., Ozols, R.:
Phase II trial of 13-cis-retinoic acid in metastatic breast cancer and other malignancies.
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 22, 441 (1981)

35. Cerbon, M.A., Pichon, M.F., Milgrom, E.:
Thyroid hormone receptors in human breast cancer.
Cancer Res. 41, 4167-4173 (1981)

36. Charabati, M.F., McLaren, D.S.:
Action des différentes formes actives de la vitamine A sur le mécanisme immunitaire chez le rat.
Experientia 29, 343-344 (1973)

37. Chaudhary, L.R.:
Effect of retinyl acetate feeding on the activity of testicular enzymes in young rats.
Experientia 36, 545 (1980)

38. Chopra, D.P., Wilkoff, L.J.:
Inhibition and reversal of carcinogen-induced lesions in mouse prostate in vitro by all-trans-retinoic acid.
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 16, 35 (1975)

39. Chopra, D.P., Wilkoff, L.J.:
Inhibition and reversal by retinoic acid of hyperplasia induced in cultured mouse prostate tissue by 3-methylcholanthrene or N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine.
J. Natl. Cancer Inst. 56, 583-589 (1976)

40. Chopra, D.P., Wilkoff, L.J.:
Reversal by vitamin A analogues (retinoids) of hyperplasia induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in mouse prostate organ cultures.
J. Natl. Cancer Inst. 58, 923-930 (1977)

41. Chu, E.W., Malmgren, R.A.:
An inhibitory effect of vitamin A on the induction of tumors of forestomach and cervix in the Syrian hamster by carcinogenic polycyclic hydrocarbons.
Cancer Res. 25, 884-895 (1965)

42. Chytil, F., Page, D.L., Ong, D.E.:
Presence of cellular retinol and retinoic acid binding proteins in human uterus.
Internat. J.Vit.Nutr.Res. 45, 293-298 (1975)

43. Chytil, F., Ong, D.E.:
Mediation of retinoic acid-induced growth and anti-tumour activity.
Nature 260, 49-51 (1976)

44. Clamon, G.H., Sporn, M.B., Smith, J.M., Saffiotti, U.:
α-and β-Retinyl acetate reverse metaplasias of vitamin A deficiancy in hamster trachea in organ culture.
Nature 250, 64-66 (1974)

45. Clamon, G.H., Nugent, K.M., Rossi, N.P.:
Cellular retinoic acid-binding protein in human lung carcinomas.
J. Natl. Cancer Inst. 67, 61-63 (1981)

46. Clark, J.N., Marchok, A.C.:
The effect of vitamin A on cellular differentiation and mucous glycoprotein synthesis in long-term rat tracheal organ cultures.
Differentiation 14, 175-183 (1979)

47. Clark, J.N., Klein-Szanto, J.P., Pine, A.H., Stephenson, K.B., Marchok, A.C.:
Reestablishment of a mucociliary epithelium in tracheal organ cultures exposed to retinyl acetate: a biochemical and morphometric study.
Europ. J. Cell Biology 21, 261-268 (1980)

48. Clifford, P.:
Carcinogens in the nose and throat: nasopharyngeal carcinoma in Kenya.
Proc. roy. Soc. Med. 65, 682-686 (1972)

49. Cohen, B.E., Cohen, I.K.:
Vitamin A: adjuvant and steroid antagonist in the immun response.
J.of.Immunol. 111, 1376-1380 (1973)

50. Cohen, S.M., Wittenberg, J.F., Bryan, G.T.:
Effect of avitaminosis A and hypervitaminosis A on urinary bladder carcinogenicity of N-(4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl)formamide.
Cancer Res. 36, 2334-2339 (1976)

51. Cone, M.V., Nettesheim, P.:
Effects of vitamin A on 3-methylcholanthrene-induced squamous metaplasias and early tumors in the respiratory tract of rats.
J.Natl.Cancer Inst. 50, 1599-1606 (1973)

52. Crocker, T.T., Sanders, L.L.:
Influence of vitamin A and 3,7-dimethyl-2,6-octadienal (citral) on the effect of benzo(a)pyrene on hamster trachea in organ culture.
Cancer Res. 30, 1312-1318 (1970)

53. Davies, I.J.T.:
Plasma-zinc concentrations in patients with bronchogenic carcinoma.
Lancet i,149 (1972)

54. Dennert, G., Lotan, R.:
Effects of retinoic acid on the immun system: stimulation of T killer cell induction.
Eur. J. Immunol. 8, 23-29 (1978)

55. Dennert, G., Crowley, C., Kouba, J., Lotan, R.:
Retinoic acid stimulation of the induction of mouse killer T-cells in allogeneic and syngeneic systems.
J.Natl.Cancer Inst. 62, 89-94 (1979)

56. Deo, M.G.:
Implications of malnutrition in chemical carcinogenesis.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 99, 77-86 (1981)

57. DeWys, W., Pories, W.J., Richter, M.C., Strain, W.H.:
Inhibition of Walker 256 carcinosarcoma growth by dietary zinc deficiency.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 135, 17-22 (1970)

58. Dickens, M.S., Sorof, S.:
Retinoid prevents transformation of cultured mammary glands by procarcinogens but not by many activated carcinogens.
Nature 285, 581-584 (1980)

59. Doll, R., Peto, R.:
The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today.
J. Natl. Cancer Inst. 66, 1191-1308 (1981)

60. Dontenwill, W., Chevalier, H.J., Harke, H.P., Klimisch, H.J., Kuhnigk, C., Reckzeh, G., Schneider, B.:
Untersuchungen über den Effekt der chronischen Zigarettenrauchinhalation beim syrischen Goldhamster und über die Bedeutung des Vitamin A auf die bei Berauchung gefundenen Organveränderungen.
Z. Krebsforsch. 89, 153-180 (1977)

61. Dresser, D.W.:
Adjuvanticity of vitamin A.
Nature 217, 527-529 (1968)

62. Dresser, D.W., Taub, R.N., Krantz, A.R.:
The effect of localized injection of adjuvant material on the draining lymph node. II. Circulating lymphocytes.
Immunology 18, 663 (1970)

63. Dvorak, A.M.:
Vitamin A in Crohn's disease.
Lancet i, 1303 (1980)

64. Editorial:
Vitamin A, retinol, carotene, and cancer prevention.
Brit. Med. J. 281, 957-958 (1980)

65. Editorial:
Vitamins, neural-tube defects, and ethics committees.
Lancet i, 1061-1062 (1980)

66. Editorial:
Retinoids in dermatology.
Lancet i, 537-538 (1981)

67. Essers, U.:
Chemotherapie metastasierender solider Tumoren und Hämoblastosen, 2. Auflage.
Enke-Verlag, Stuttgart (1980)

68. Evard, J.P., Bollag, W.:
Konservative Behandlung der rezidivierenden Harnblasenpapillomatose mit Vitamin A-Säure.
Schweiz. med. Wschr, 102, 1880-1883 (1972)

69. Evers, J.L., Patel, J., Madeja, J.M., Schneider, S.L., Hobika, G.H., Camiolo, S.M., Markus, G.:
Plasminogen activator activity and composition in human breast cancer.
Cancer Res. 42, 219-226 (1982)

70. Falchuk, K.R., Walter, W.A., Perrotto, J.L., Isselbacher, K.J.:
Effect of vitamin A on the systemic and local antibody responses to intragastrically administered bovine serum albumin.
Infection and Immunity 17, 361-365 (1977)

71. Felix, E.L., Loyd, B., Cohen, M.H.:
Inhibition of the growth and development of a transplantable murine melanoma by vitamin A.
Science 189, 886-888 (1975)

72. Floersheim, G.L., Bollag, W.:
Accelerated rejection of skin homografts by vitamin A acid.
Transplantation 15, 564-567 (1972)

73. Fragner, J. (Hrsg.):
Vitamine: Chemie und Biochemie.
Gustav Fischer Verlag, Jena (1964)

74. Frentzel-Beyme, R., Leutner, R., Wagner, G., Wiebelt, H.:
Krebsatlas der Bundesrepublik Deutschland: Krebssterblichkeit in den Ländern der Bundesrepublik Deutschland 1955-1975.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1979)

75. Gabrial, G.N., Schrager, T.F., Newberne, P.M.:
Zinc deficiency, alcohol, and a retinoid: association with esophageal cancer in rats.
J. Natl. Cancer Inst. 68, 785-789 (1982)

76. Gal, I., Parkinson, G., Craft, I.:
Effects of oral contraceptives on human plasma vitamin-A levels.
Br. Med. J. 2, 436-438 (1971)

77. Gallmeier, W.M.:
Vitamin C und Krebs.
Münch. med. Wschr. 124, 31-32 (1982)

78. Genta, V.M., Kaufman, D.G., Harris, C.C., Smith, J.M., Sporn, M.B., Saffiotti, U.:
Vitamin A deficiency enhances binding of benzo(a) pyrene to tracheal epithelial DNA.
Nature 247, 48-49 (1974)

79. Gericke, D., Graul, E.H.:
Maligne Tumoren: immunologische Aspekte in Nachweis und Therapie.
Diagnostik 12, 330-333 (1979)

80. Gläser, A. (Hrsg.):
Onkologie. 2. Auflage,
Verlag Volk und Gesundheit, Berlin (1980)

81. Goerz, G., Ippen, H.:
Carotinoid-Behandlung von Lichtdermatosen.
Dtsch. med. Wschr, 102, 1051-1055 (1977)

82. Goodman, D.S.:
Plasma retinol-binding protein.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 348, 378-390 (1980)

83. Goodman, D.S.:
Retinoid-binding proteins in plasma and in cells.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 359, 69-78 (1981)

84. Goodman, G.E., Einspar, J.G., Alberts, D.S., Davis, T.P., Leigh, S.A., Chen, H.S.G., Meyskens, F.L.:
Pharmacokinetics of 13-cis-retinoic acid in patients with advanced cancer.
Cancer Res. 42, 2087-2091 (1982)

85. Gordis, L.:
Assuring the quality of questionnaire data in epidemiologic research.
American J. of Epidemiology 109, 21-24 (1979)

86. Graham, S., Dayal, H., Rohrer, T., Swanson, M., Sultz, H., Shedd, D., Fischman, S.:
Dentition, diet, tobacco, and alcohol in the epidemiology of oral cancer.
J. Natl. Cancer Inst. 59, 1611-1618 (1977)

87. Graham, S., Dayal, H., Swanson, M., Mittelman, A., Wilkinson, G.:
Diet in the epidemiology of cancer of the colon and rectum.
J. Natl. Cancer Inst. 61, 709-714 (1978)

88. Graham, S., Mettlin, C.:
Diet and colon cancer.
American J. of Epidemiology 109, 1-20 (1979)

89. Griffin, A.C.:
Role of selenium in the chemoprevention of cancer.
Advances in Cancer Res. 29, 419-442 (1979)

90. Grubbs, C.J., Moon, R.C., Sporn, M.B., Newton, D.L.:
Inhibition of mammary cancer by retinyl methyl ether.
Cancer Res. 37, 599-602 (1977)

91. Grubbs, C.J., Moon, R.C., Squire, R.A., Farrow, G.M., Stinson, S.F., Goodman, D.G., Brown, C.C., Sporn, M.B.:
13-cis-Retinoic acid: inhibition of bladder carcinogenesis induced in rats by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine.
Science 198, 743-744 (1977)

92. Gullino, P.M., Pettigrew, H.M., Grantham, F.H.:
N-Nitrosomethylurea as mammary gland carcinogen in rats.
J. Natl. Cancer Inst. 54, 401-414 (1975)

93. Gunby, P.:
Retinoid chemoprevention trial begins against bladder cancer.
JAMA 240, 609-614 (1978)

94. Gunby, P.:
Synthetic retinoid used in dermatopathies.
JAMA 240, 610 (1978)

95. Gunby, P.:
Additional retinoid-cancer research in progress.
JAMA 240, 614-615 (1978)

96. Harington, J.S.: Fiber carcinogenesis: epidemiologic observations and the Stanton hypothesis.
J. Natl. Cancer Inst. 67, 977-988 (1981)

97. Harris, C.C., Sporn, M.B., Kaufman, D.G., Smith, J.M., Jackson, F.E., Saffiotti, U.:
Histogenesis of squamous metaplasia in the hamster tracheal epithelium caused by vitamin A deficiency or benzo(a)pyrene-ferric oxide.
J. Natl. Cancer Inst. 48, 743-761 (1972)

98. Haslam, S.Z., Bern, H.A.:
Histopathogenesis of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced rat mammary tumors.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 4020-4024 (1977)

99. Hauswirth, J.W., Brizuela, B.S.:
The differential effects of chemical carcinogens on vitamin A status and on microsomal drug metabolism in normal and vitamin A-deficient rats.
Cancer Res. 36, 1941-1946 (1976)

100. Hegsted, D.M.:
Relevance of animal studies to human disease.
Cancer Res. 35, 3537-3539 (1975)

101. Hehlmann, R.:
Psychosomatik und Krebs.
Münch. med. Wschr. 124, 829-830 (1982)

102. Heimann, W.:
Grundzüge der Lebensmittelchemie, 3. Auflage.
Steinkopff Verlag, Darmstadt (1976)

103. Hicks, R.M.:
Hyperplasia and cornification of the transitional epithelium in the vitamin A-deficient rat.
J. Ultrastructure Res. 22, 206-230 (1968)

104. Hill, D.L., Shih, T.:
Vitamin A compounds and analogs as inhibitors of mixed-function oxidases that metabolize carcinogenic polycyclic hydrocarbons and other compounds.
Cancer Res. 34, 564-570 (1974)

105. Hixson, E.J., Denine, E.P.:
Comparative subacute toxicity of retinyl acetate and three synthetic retinamides in Swiss mice.
J. Natl. Cancer Inst. 63, 1359-1364 (1979)

106. Hogan, B.:
Epithelial cancer, differentiation, and vitamin A.
Nature 277, 261-262 (1979)

107. Honma, Y., Takenaga, K., Kasukabe, T., Hozumi, M.:
Induction of differentiation of cultured human promyelocytic leukemia cells by retinoids.
Biochem. Biophys. Res. Communications 95, 507-512 (1980)

108. Huber, P.R., Geyer, E., Küng, W., Matter, A., Torhorst, J., Eppenberger, U.:
Retinoic acid-binding protein in human breast cancer and dysplasia.
J. Natl. Cancer Inst. 61, 1375-1378 (1978)

109. Ide, F., Ishikawa, T., Takayama, S.:
Detection of chemical carcinogens by assay of unscheduled DNA synthesis in rat racheal epithelium in short-term organ culture.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 102, 115-126 (1981)

110. Izumi, K., Hirao, Y., Hopp, L., Oyasu, R.:
In vitro induction of ornithine decarboxylase in urinary bladder carcinoma cells.
Cancer Res. 41, 405-409 (1981)

111. Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A.:
Medizinische Mikrobiologie, 5. Auflage.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1980)

112. Jetten, A.M., Jetten, M.E.R.:
Possible role of retinoic acid binding protein in retinoid stimulation of embryonal carcinoma cell differentiation.
Nature 278, 180-182 (1979)

113. Jurin, M., Tannock, I.F.:
Influence of vitamin A on immunological response.
Immunology 23, 283-287 (1972)

114. Kark, J.D., Smith, A.H., Switzer, B.R., Hames, C.G.:
Serum vitamin A (retinol) and cancer incidence in Evans County, Georgia
J. Natl. Cancer Inst. 66, 7-16 (1981)

115. Kerr, I.G., Lippman, M., Jenkins, J., Myers, C.:
Clinical pharmacology of 13-cis-retinoic acid.
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 22, 357 (1981)

116. Kerr, I.G., Lippman, M.E., Jenkins, J., Myers, C.:
Pharmacology of 13-cis-retinoic acid in humans.
Cancer Res. 42, 2069-2073 (1982)

117. Kierkegaard, Sören:
Die Krankheit zum Tode, 2. Auflage.
Gütersloher Verlagshaus Mohn, Gütersloh (1982)

118. Kindl, H., Wöber, G.:
Biochemie der Pflanzen.
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1975)

119. Kistler, G.S., Peter, H.J.:
Wirkung von zwei Retinoiden (Vitamin A-Analogen) auf menschliche Bronchuskarzinome in vivo (nu/nu-Maus) und in vitro.
Schweiz. med. Wschr. 109, 847-850 (1979)

120. Koch, H.F.:
Biochemical treatment of precancerous oral lesions: the effectiveness of various analogues of retinoic acid.
J. max-fac. Surg. 6, 59-63 (1978)

121. Kohl, F.V., Rüdiger, H.W.:
In vitro-Untersuchungen an menschlichen Zellkulturen zur Tumorprophylaxe durch Vitamin A.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 93, (1979), 149-160

122. Koss, L.G.:
Tumors of the urinary bladder. In: Firminger, H.I. (Hrsg.):
Atlas of tumor pathology. 2. Serie, 11. Teil.
Armed forces institute of pathology, Washington, D.C. (1975)

123. Kurata, T., Micksche, M.:
Suppressed tumor growth and metastasis by vitamin A+BCG in Lewis lung tumor bearing mice.
Oncology 34, 212-215 (1977)

124. Kute, T.E., Muss, H.B., Anderson, D., Crumb, K., Miller, B., Burns, D., Dube, L.A.:
Relationship of steroid receptor, cell kinetics, and clinical status in patients with breast cancer.
Cancer Res. 41, 3524-3529 (1981)

125. Lang, K.:
Biochemie der Ernährung, 4. Auflage.
Steinkopff Verlag, Darmstadt (1979)

126. Lasnitzki, I.:
The influence of A hypervitaminosis on the effect of 20-methylcholanthrene on mouse prostate glands grown in vitro.
Br. J. Cancer 9, 434-441 (1955)

127. Lasnitzki, I.:
Hypovitaminosis-A in the mouse prostate gland cultured in chemically defined medium.
Exp. Cell Res. 28, 40-51 (1962)

128. Lasnitzky, I., Goodmann, D.S.:
Inhibition of the effects of methylcholanthrene on mouse prostate in organ culture by vitamine A and its analogs.
Cancer Res. 34, 1564-1571 (1974)

129. Lasnitzki, I.:
Reversal of methylcholanthrene-induced changes in mouse prostates in vitro by retinoic acid and its analogues.
Br. J. Cancer 34, 239-248 (1976)

130. Levij, I.S., Polliack, A.:
Potentiating effect of vitamin A on 9-10 dimethyl 1-2 benzanthracene-carcinogenesis in the hamster cheek pouch.
Cancer 22, 300-306 (1968)

131. Levine, H., Meyskens, F.L.:
Topical vitamin-A-acid therapy for cutaneous metastatic melanoma.
Lancet i,224-226 (1980)

132. Lichti, U., Slaga, T.J., Ben, T., Patterson, E., Hennings, H., Yuspa, S.H.:
Dissociation of tumor promoter-stimulated ornithine decarboxylase activity and DNA synthesis in mouse epidermis in vivo and in vitro by fluocinolone acetonide, a tumor-promotion inhibitor.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 3908-3912 (1977)

133. Lindsey, W.F., Das Gupta, T.K., Beattie, C.W.:
Influence of the estrous cycle during carcinogen exposure on nitrosomethylurea-induced rat mammary carcinoma.
Cancer Res. 41, 3857-3862 (1981)

134. Longnecker, D.S., Roebuck, B.D., Yager, J.D., Lilja, H.S., Siegmund, B.:
Pancreatic carcinoma in azaserine-treated rats: induction, classification and dietary modulation of incidence.
Cancer 47, 1562-1572 (1981)

135. Longnecker, D.S., Curphey, T.J., Kuhlmann, E.T., Roebuck, B.D.:
Inhibition of pancreatic carcinogenesis by retinoids in azaserine-treated rats.
Cancer Res. 42, 19-24 (1982)

136. Lotan, R., Dennert, G.:
Stimulatory effects of vitamin A analogs on induction of cell-mediated cytotoxicity in vivo.
Cancer Res. 39, 55-58 (1979)

137. Lotan, R., Neumann, G., Lotan, D.:
Relationships among retinoid structure, inhibition of growth, and cellular retinoic acid-binding protein in cultured S91 melanoma cells.
Cancer Res. 40, 1097-1102 (1980)

138. Lotan, R.:
Effects of vitamin A and its analogs (retinoids) on normal and neoplastic cells.
Biochim. Biophys. Acta 605, 33-91 (1980)

139. Lotan, R., Ong, D.E., Chytil, F.:
Comparison of the level of cellular retinoid-binding proteins and susceptibility to retinoid-induced growth inhibition of various neoplastic cell lines.
J. Natl. Cancer Inst. 64, 1259-1262 (1980)

140. Loub, W.D., Wattenberg, L.W., Davis, D.W.:
Aryl hydrocarbon hydroxylase induction in rat tissues by naturally occurring indoles of cruciferous plants.
J. Natl. Cancer Inst. 54, 985-988 (1975)

141. Maden, M.:
Vitamin A and pattern formation in the regenerating limb.
Nature 295, 672-675 (1982)

142. Maiorana, A., Gullino, P.M.:
Effect of retinyl acetate on the incidence of mammary carcinomas and hepatomas in mice.
J. Natl. Cancer Inst. 64, 655-663 (1980)

143. Major, P.C., Westfall, S.S., Wirtz, G.H.:
Vitamin A: probe of immune complement reactions.
Immunochemistry 6, 527-538 (1969)

144. Mathews-Roth, M.M., Pathak, M.A., Fitzpatrick, T.B., Harber, L.C., Kass, E.H.:
β-Carotene as an oral photoprotective agent in erythropoietic protoporphyria.
JAMA 228, 1004-1008 (1974)

145. Mathews-Roth, M.M.:
Antitumor activity of β-carotene, canthaxanthin an phytoene.
Oncology 39, 33-37 (1982)

146. Mathur, A., Wallenius, K., Abdulla, M.:
Influence of zinc on onset and progression of oral carcinogenesis in rats.
Acta Odontol. Scand. 37, 277-284 (1979)

147. Matter, A., Bollag, W.:
A fine structural study on the therapeutic effects on an aromatic retinoid on chemically-induced skin papillomas of the mouse.
Europ. J. Cancer 13, 831-838 (1977)

148. Maugh, T.H., Marx, J.L.:
Zerstörendes Wachstum: Entstehung und Behandlung des Krebses.
Thieme Verlag, Stuttgart (1979)

149. Mayer, H., Bollag, W., Hänni, R., Rüegg, R.:
Retinoids, a new class of compounds with prophylactic and therapeutic activities in oncology and dermatology.
Experientia 34, 1105-1119 (1978)

150. McCormick, D.L., Burns, F.J., Albert, R.E.:
Inhibition of rat mammary carcinogenesis by short dietary exposure to retinyl acetate.
Cancer Res. 40, 1140-1143 (1980)

151. McCormick, D.L., Burns,F.J., Albert, R.E.:
Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mammary carcinogenesis by retinyl acetate.
J. Natl. Cancer Inst. 66, 559-564 (1981)

152. McCormick, D.L., Mehta, R.G., Thompson, C.A., Dinger, N., Caldwell, J.A., Moon, R.C.:
Enhanced inhibition of mammary carcinogenesis by combined treatment with N-(4-hydroxyphenyl) retinamide and ovariectomy.
Cancer Res. 42, 508-512 (1982)

153. McGuire, W.L., Horwitz, K.B., Pearson, O.H., Segaloff, A.:
Current status of estrogen and progesterone receptors in breast cancer.
Cancer 39, 2934-2947 (1977)

154. McLaren, D.S.:
Vitamin A and cancer.
Lancet ii:1144-1145 (1980)

155. MacLennan, R., Da Costa, J., Day, N.E., Law, C.H., Ng, Y.K., Shanmugaratnam, K.:
Risk factors for lung cancer in Singapore Chinese, a population with high female incidence rates.
Int. J. Cancer 20, 854-860 (1977)

156. Mehta, R.G., Cerny, W.L., Moon, R.C.:
Distribution of retinoic acid-binding proteins in normal and neoplastic mammary tissues.
Cancer Res. 40, 47-49 (1980)

157. Meltzer, M.S., Cohen, B.E.:
Brief communication: tumor suppression by Mycobacterium bovis (strain BCG) enhanced by vitamin A.
J. Natl. Cancer Inst. 53, 585-587 (1974)

158. Mettlin, C., Graham, S.:
Dietary risk factors in human bladder cancer.
American J. of Epidemiology 110, 255-263 (1979)

159. Mettlin, C., Graham, S., Swanson, M.:
Vitamin A and lung cancer.
J. Natl. Cancer Inst. 62, 1435-1438 (1979)

160. Meyskens, F.L., Gilmartin, E., Chase, E., Alberts, D., Surwit, E., Jones, S.E., Salmon, S.E.:
A broad phase II trial of 13-cis-retinoic acid in advanced cancer.
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 22, 370 (1981)

161. Micksche, M., Cerni, C., Kokron, O., Titscher, R., Wrba, H.:
Stimulation of immune response in lung cancer patients by vitamin A therapy.
Oncology 34, 234-238 (1977)

162. Moolgavkar, S.H., Stevens, R.G.:
Smoking and cancer of bladder and pancreas: risks and temporal trends.
J. Natl. Cancer Inst. 67, 15-23 (1981)

163. Moon, R.C., Grubbs, C.J., Sporn, M.B.:
Inhibition of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinogenesis by retinyl acetate.
Cancer Res. 36, 2626-2630 (1976)

164. Moon, R.C., McCormick, D.L., Sowell, Z.L., Fugmann, R.A.:
Inhibition of mammary cancer recurrence in rats by retinoid plus ovariectomy.
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 22, 124 (1981)

165. Mossmann, B.T., Craighead, J.E., MacPherson, B.V.:
Asbestos-induced epithelial changes in organ cultures of hamster trachea: inhibition by retinyl methyl ether.
Science 207, 311-313 (1980)

166. Müller-Salamin, L., Matter, A., Lasnitzky, I.:
Interaction of retinoic acid and 3-methylcholanthrene on the fine structure of mouse prostate epithelium in vitro.
J. Natl. Cancer Inst. 63, 485-495 (1979)

167. Nagasawa, H., Morii, S.:
Prophylaxis of spontaneous mammary tumorigenesi by temporal inhibition of prolactin secretion in rats at young ages.
Cancer Res. 41, 1935-1937 (1981)

168. Nakamura, H.:
Digital anomalies in the embryonic mouse limb cultured in the presence of excess vitamin A.
Teratology 16, 195-202 (1977)

169. Nettesheim, P., Snyder, C., Williams, M.L., Cone, M.V., Kim, J.C.S.:
Effect of vitamin A on lung tumor induction in rats.
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 16, 54 (1975)

170. Nettesheim, P., Williams, M.L.:
The influence of vitamin A on the susceptibility of the rat lung to 3-methylcholanthrene.
Int. J. Cancer 17, 351-357 (1976)

171. Nettesheim, P.:
Inhibition of carcinogenesis by retinoids.
Canadian Medical Ass. J. 122, 757-765 (1980)

172. Newberne, P.M., Rogers, A.E.:
Rat colon carcinomas associated with aflatoxin and marginal vitamin A.
J. Natl. Cancer Inst. 50, 439-448 (1973)

173. Newberne, P.M., Suphakarn, V.:
Preventive role of vitamin A in colon carcinogenesis in rats.
Cancer 40, 2553-2556 (1977)

174. Newell, G.R., Ellison, N.M. (Hrsg.):
Nutrition and cancer: etiology and treatment.
Raven Press, New York (1981)

175. Noltenius, H.:
Systematik der Onkologie:
Klassifizierung, Morphologie, Klinik; in 2 Bd.
Urban und Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore
(1981)

176. O'Brien, T.G., Simsiman, R.C., Boutwell, R.K.:
Induction of the polyamine-biosynthetic enzymes
in mouse epidermis by tumor-promoting agents.
Cancer Res. 35, 1662-1670 (1975)

177. O'Brien, T.G.:
The induction of ornithine decarboxylase as an
early, possibly obligatory, event in mouse skin
carcinogenesis.
Cancer Res. 36, 2644-2653 (1976)

178. O'Connor, P.J.:
Interaction of chemical carcinogens with
macromolecules.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 99, 167-186 (1981)

179. O'Malley, B.W., Means, A.R.:
Female steroid hormones and target cell nuclei.
Science 183, 610-619 (1974)

180. Ong, D.E., Page, D.L., Chytil, F.:
Retinoic acid binding protein: occurrence in
human tumors.
Science 190, 60-61 (1975)

181. Ong, D.E., Chytil, F.:
Retinoic acid-binding protein in rat tissue.
Partial purification and comparison to rat
tissue retinol-binding protein.
J. of Biol. Chem. 250, 6113-6117 (1975)

182. Ong, D.E., Tsai, C., Chytil, F.:
Cellular retinol-binding protein and retinoic
acid-binding protein in rat testes: effect of
retinol depletion.
J. Nutr. 106, 204-211 (1976)

183. Ong, D.E., Chytil, F.:
Cellular retinol-binding protein from rat liver: purification and characterization.
J. of Biol. Chem. 253, 828-832 (1978)

184. Ong, D.E., Chytil, F.:
Cellular retinoic acid-binding protein from rat testis: purification and characterization.
J. of Biol. Chem. 253, 4551-4554 (1978)

185. Ong, D.E., Markert, C., Chiu, J.:
Cellular binding proteins for vitamin A in colorectal adenocarcinoma of rat.
Cancer Res. 38, 4422-4426 (1978)

186. Ong, D.E.:
Purification and partial characterization of cellular retinol-binding protein from human liver.
Cancer Res. 42, 1033-1037 (1982)

187. Orynich, R.E., Wirtz, G.H.:
Vitamin A: probe of immune complement reactions-II: enhancement of human complement hemolysis.
Immunochemistry 8, 113-119 (1971)

188. Ott, D.B., Lachance, P.A.:
Retinoic acid-a review.
American J. Clinical Nutr. 32, 2522-2531 (1979)

189. Palan, P.R., Romney, S.L.:
Cellular binding proteins for vitamin A in the normal human uterine cervix and in dysplasias.
Cancer Res. 39, 3114-3118 (1979)

190. Palan, P.R., Romney, S.L.:
Cellular binding proteins for vitamin A in human carcinomas and in normal tissues.
Cancer Res. 40, 4221-4224 (1980)

191. Peck, G.L., Olsen, T.G., Butkus, D., Pandy, M., Arnaud-Battandier, J., Yoder, F., Levis, W.R.:
Treatment of basal cell carcinomas with 13-cis-retinoic acid.
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 20, 56 (1979)

192. Peto, R., Doll, R., Buckley, J.D., Sporn, M.B.:
Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates?
Nature 290, 201-208, (1981)

193. Pitot, H.C.:
The natural history of neoplastic development: the relation of experimental models to human cancer.
Cancer 49, 1206-1211 (1982)

194. Plamenac, P., Nikulin, A., Pikula, B.:
Cytology of the respiratory tract in former smokers.
Acta Cytologica 16, 256-260 (1972)

195. Plewig, G., Wagner, A., Braun-Falco, O.:
Orale Behandlung schwerster Akneformen mit 13-cis-Retinsäure.
Münch. med. Wschr. 122, 1287-1293 (1980)

196. Port, C.D., Sporn, M.B., Kaufman, D.G.:
Prevention of lung cancer in hamsters by 13-cis-retinoic acid.
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 16, 21 (1975)

197. Presant, C.A., Bearman, R., Bartolucci, A., Lefante, J.:
Randomized study of 13-cis-retinoic acid (RA) plus busulfan (B) or B alone in chronic phase chronic granulocytic leukemia (CGL).
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 22, 488 (1981)

198. Preussmann, R.:
Chemische Carcinogene in der menschlichen Umwelt.
In: Grundmann, E. (Hrsg.):
Geschwülste-Tumors II: Virale und chemische Carcinogenese. In: Altmann, H.W. u.a. (Hrsg.):
Handbuch der allgemeinen Pathologie, 6. Band, 6. Teil.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1975), S. 421-594

199. Rattanapanone, V., Tashiro, S., Tokuda, H., Rattanapanone, N., Ito, Y.:
Cellular retinoic acid-binding protein in virus-induced Shope papillomas of rabbit skin.
Cancer Res. 41, 1483-1487 (1981)

200. Reddy, B.D., Mori, H., Nicolais, M.:
Effect of dietary wheat bran and dehydrated citrus fiber on azoxymethane-induced intestinal carcinogenesis in Fischer 344 rats.
J. Natl. Cancer Inst. 66, 553-557 (1981)

201. Rogers, A.E., Herndorn, B.J., Newberne, P.M.:
Induction by dimethylhydrazine of intestinal carcinoma in normal rats and rats fed high or low levels of vitamin A.
Cancer Res. 33, 1003-1009 (1973)

202. Rose, D.P., Pruitt, B.T.:
Plasma prolactin levels in patients with breast cancer.
Cancer 48, 2687-2691 (1981)

203. Rose, D.P., Noonan, J.J.:
Influence of prolactin and growth hormone on rat mammary tumors induced by N-nitrosomethylurea.
Cancer Res. 42, 35-38 (1982)

204. Russo, J., Russo, I.H.:
DNA labeling index and structure of the rat mammary gland as determinants of its susceptibility to carcinogenesis.
J. Nat. Cancer Inst. 61, 1451-1459 (1978)

205. Rustin, G.J.S., Bagshawe, K.D.:
Trial of an aromatic retinoid in patients with solid tumours.
Br. J. Cancer 45, 304-308 (1982)

206. Ryssel, H.J., Brunner, K.W., Bollag, W.:
Die perorale Anwendung von Vitamin A-Säure bei Leukoplakien, Hyperkeratosen und Plattenepithelkarzinomen: Ergebnisse und Verträglichkeit.
Schw. med. Wschr. 101 1027-1030 (1971)

207. Saccomanno, G., Archer, V.E., Auerbach, O., Kuschner, M., Saunders, R.P., Klein, M.G.:
Histologic types of lung cancer among uranium miners.
Cancer 27, 515-523 (1971)

208. Sadek, I.A.:
Vitamin A and its inhibitory effect as tested on Egyptian toads.
Oncology 38, 23-26 (1981)

209. Saffiotti, U., Montesano, R., Sellakumar, A.R., Borg, S.A.:
Experimental cancer of the lung: inhibition by vitamin A of the induction of tracheobronchial squamous metaplasia and squamous cell tumors.
Cancer 20, 857-864 (1967)

210. Sakula, A.:
Vitamin A and cancer.
Lancet ii, 1029-1030 (1980)

211. Sani, B.P., Titus, B.C.:
Retinoic acid-binding protein in experimental tumors and in tissues with metastatic tumor foci.
Cancer Res. 37, 4031-4034 (1977)

212. Sani, B.P., Corbett, T.H.:
Retinoic acid-binding protein in normal tissues and experimental tumors.
Cancer Res. 37, 209-213 (1977)

213. Sani, B.P., Condon, S.M., Banerjee, C.K.:
Purification and properties of retinol- and retinoic acid-binding proteins from a transplantable mouse colon tumor.
Biochim. Biophys. Acta 624, 226-236 (1980)

214. Sani, B.P., Condon, S.M., Brockman, R.W., Weiland, L.H., Schutt, A.J.:
Retinoic acid-binding protein in experimental and human colon tumors.
Cancer 45, 1199-1206 (1980)

215. Scalabrino, G., Modena, D., Ferioli, M.E., Puerari, M., Luccarelli, G.:
Degrees of malignancy in human primary central nervous system tumors: ornithine decarboxylase levels as better indicators than adenosylmethionine decarboxylase levels.
J. Natl. Cancer Inst. 68, 751-754 (1982)

216. Schmähl, D., Krüger, C., Preissler, P.:
Versuche zur Krebsprophylaxe mit Vitamin A.
Arzneim. Forsch. 22, 946-949 (1972)

217. Schmähl, D. (Hrsg.):
Maligne Tumoren: Entstehung-Wachstum-Chemotherapie, 3. Auflage.
Editio Cantor, Aulendorf (1981)

218. Schmale, A.H., Jäger, H.:
Streß und Krebs.
Med. Klin. 77 (Nr. 10), (1982), 25-29

219. Schneeberger, H.W., Winter, W., Forck, G.:
Das Verhalten des Serum-Vitamin-A-Spiegels bei Patienten mit Psoriasis vulgaris nach oraler Belastung mit Vitamin-A-Palmitat.
Internat. Z. Vit. Ern. Forsch. 44, 20-29 (1974)

220. Schormüller, J.:
Lehrbuch der Lebensmittelchemie. 2. Auflage.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1974)

221. Schreiber, H., Saccomanno, G., Martin, D.H., Brennan, L.:
Sequential cytological changes during development of respiratory tract tumors induced in hamsters by benzo(a)pyrene-ferric oxide.
Cancer Res. 34, 689-698 (1974)

222. Schroder, E.W., Black, P.H.:
Retinoids: tumor preventers or tumor enhancers?
J. Natl. Cancer Inst. 65, 671-674 (1980)

223. Schwartz, A.E., Leddicotte, G.W., Fink, R.W., Friedman, E.W.:
Trace elements in normal and malignant human breast tissue.
Surgery 76, 325-329 (1974)

224. Schwarz, J.A., Viaje, A., Slaga, T.J.:
Fluocinolone acetonide: a potent inhibitor of mouse skin tumor promotion and epidermal DNA synthesis.
Chem. Biol. Interactions 17, 331-347 (1977)

225. Seifter, E., Rettura, G., Levenson, S.M.:
Decreased resistance of C3H/HeHa mice to C3HBA tumor transplants: increased resistance due to supplemental vitamin A.
J. Natl. Cancer Inst. 67, 467-472 (1981)

226. Seifter, E., Rettura, G., Padawer, J., Levenson, S.M.:
Moloney murine sarcoma virus tumors in CBA/J mice: chemopreventive and chemotherapeutic actions of supplemental β-carotene.
J. Natl. Cancer Inst. 68, 835-840 (1982)

227. Seller, M.J., Embury, S., Polani, P.E., Adinolfi, M.:
Neural tube defects in curly-tail mice. II. Effect of maternal administration of vitamin A.
Proc. R. Soc. Lond. B. 206, 95-107 (1979)

228. Seon, B.K., Pressman, D.:
Retinol-binding protein in the urine of cancer patients.
Cancer Res. 39, 4423-4429 (1979)

229. Sharpe, R.:
Vitamins and neural-tube defects.
Lancet i, 1301 (1980)

230 Shekelle, R.B., Lepper, M., Liu, S., Maliza, C., Raynor, W.J., Rossof, A.H., Paul, O., Shryock, A.M., Stamler, J.:
Dietary vitamin A and risk of cancer in the Western Electric Study.
Lancet ii (Nr. 8257), 1185-1190 (1981)

231. Shklar, G., Flynn, E., Szabo, G., Marefat, P.:
Retinoid inhibition of experimental lingual carcinogenesis: ultrastructural observations.
J. Natl. Cancer Inst. 65, 1307-1316 (1980)

232. Shklar, G., Marefat, P., Kornhauser, A., Trickler, D.P., Wallace, K.D.:
Retinoid inhibition of lingual carcinogenesis.
Oral Surgery 49, 325-332 (1980)

233. Skogh, M., Sundquist, T., Tagesson, C.:
Vitamin A in Crohn's disease.
Lancet i (Nr. 8171) 766 (1980)

234. Slaga, T.J., Thompson, S., Smuckler, E.A.:
Prolonged inhibition of mouse epidermal DNA synthesis by dexamethasone.
J. Natl. Cancer Inst. 54, 931-936 (1975)

235. Slaga, T.J., Lichti, U., Hennings, H., Elgjo, K., Yuspa, S.H.:
Effects of tumor promotors and steroidal anti-inflammatory agents on skin of newborn mice in vivo and in vitro.
J. Natr. Cancer Inst. 60, 425-431 (1978)

236. Slaga, T.J. (Hrsg.):
Carcinogenesis, Vol. 5: modifiers of chemical carcinogenesis: an approach to the biochemical mechanism and cancer prevention.
Raven Press, New York (1980)

237. Slaga, T.J.:
Antiinflammatory steroids: potent inhibitors of tumor promotion. In: Slaga, T.J. (Hrsg.): Carcinogenesis, Vol. 5: modifiers of chemical carcinogenesis: an approach to the biochemical mechanism and cancer prevention.
Raven Press, New York, S. 111-126 (1980)

238. Smith, D.M., Rogers, A.E., Herndon, B.J., Newberne, P.M.:
Vitamin A (retinyl acetate) and benzo(a)pyrene-induced respiratory tract carcinogenesis in hamsters fed a commercial diet.
Cancer Res. 35, 11-16 (1975)

239. Smith, D.M., Rogers, A.E., Newberne, P.M.:
Vitamin A and benzo(a)pyrene carcinogenesis in the respiratory tract of hamsters fed a semisynthetic diet.
Cancer Res. 35, 1485-1488 (1975)

240. Smith, J.C.:
The vitamin A-zinc connection: a review.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 355, 62-75 (1980)

241. Sontag, Susan:
Krankheit als Metapher. 2. Auflage.
Hanser Verlag, München-Wien (1980)

242. Spitznagel, J.K., Allison, A.C.:
Mode of action of adjuvants: retinol and other lysosome-labilizing agents as adjuvants.
J. of Immunology 104, 119-127 (1970)

243. Sporn, M.B., Clamon, G.H., Dunlop, N.M., Newton, D.L., Smith, J.M., Saffiotti, U.:
Activity of vitamin A analogues in cell cultures of mouse epidermis and organ cultures of hamster trachea.
Nature 253, 47-49 (1975)

244. Sporn, M.B., Dunlop, N.M., Newton, D.L., Smith, J.M.:
Prevention of chemical carcinogenesis by vitamin A and its synthetic analogs (retinoids).
Federation Proc. 35, 1332-1338 (1976)

245. Sporn, M.B., Dunlop, N.M., Newton, D.L., Henderson, W.R.:
Relationships between structure and activity of retinoids.
Nature 263, 110-113 (1976)

246. Sporn, M.B. Squire, R.A., Brown, C.C., Smith, J.M., Wenk, M.L., Springer, S.:
13-cis-Retinoic acid: inhibition of bladder carcinogenesis in the rat.
Science 195, 487-489 (1977)

247. Sporn, M.B.:
Chemoprevention of cancer.
Nature 272, 402-403 (1978)

248. Sporn, M.B., Newton, D.L.:
Retinoids and chemoprevention of cancer.
In: Zedeck, M.S., Lipkin, H. (Hrsg.):
Inhibition of tumor induction and development.
Plenum Press, New York-London (1981), S. 71-100

249. Squire, R.A., Sporn, M.B., Brown, C.C., Smith, J.M., Wenk, M.L., Springer, S.:
Histopathological evaluation of the inhibition of rat bladder carcinogenesis by 13-cis-retinoic acid.
Cancer Res. 37, 2930-2936 (1977)

250. Statistisches Bundesamt:
Statistisches Jahrbuch 1982 für die Bundesrepublik Deutschland.
Verlag W. Kohlhammer, Mainz (1982)

251. Stinson, S.F., Reznik, G., Donahoe, R.:
Effect of three retinoids on tracheal carcinogenesis with N-methyl-N-nitrosourea in hamsters.
J. Natl. Cancer Inst. 66, 947-951 (1981)

252. Stoll, B.A. (Hrsg.):
Mind and cancer prognosis.
John Wiley & Sons, Chichester-New York-Brisbane-Toronto (1979)

253. Stüttgen, G.:
Retinoide: Vitamin-A-Säure und ihre Derivate in der Dermatologie.
Münch. med. Wschr. 122, 1285-1286 (1980)

254. Tannock, I.F., Suit, H.D., Marshall, N.:
Vitamin A and the radiation response of experimental tumors: an immune-mediated effect.
J. Natl. Cancer Inst. 48, 731-741 (1972)

255. Taub, R.N., Krantz, A.R., Dresser, D.W.:
The effect of localized injection of adjuvant material on the draining lymph node.
I. Histology. Immunology 18, 171 (1970)

256. Thompson, H.J., Becci, P.J., Brown, C.C., Moon, R.C.:
Effect of the duration of retinyl acetate feeding on inhibition of 1-methyl-1-nitrosourea-induced mammary carcinogenesis in the rat.
Cancer Res. 39, 3977-3980 (1979)

257. Thompson, H.J., Becci, P.J.:
Selenium inhibition of N-methyl-N-nitrosourea-inducedmammary carcinogenesis in the rat.
J. Natl. Cancer Inst. 65, 1299-1301 (1980)

258. Thompson, H.J., Meeker, L.D., Becci, P.J.:
Effect of combined selenium and retinyl acetate treatment on mammary carcinogenesis.
Cancer Res. 41, 1413-1416 (1981)

259. Thompson, H.J., Meeker, L.D., Tagliaferro, A.R., Becci, P.J.:
Effect of retinyl acetate on the occurence of ovarian hormone-responsive and -nonresponsive mammary cancers in the rat.
Cancer Res. 42, 903-905 (1982)

260. Trown, P.W., Palleroni, A.V., Bohoslawec, O., Richelo, B.N., Halpern, J.M., Gizzi, N., Geiger, R., Lewinski, C., Machlin, L.J., Jetten, A., Jetten M.E.R.:
Relationship between binding affinities to cellular retinoic acid-binding protein and in vivo and in vitro properties for 18 retinoids.
Cancer Res. 40, 212-220 (1980)

261. Tseng Lui, N.S., Roels, O.A.:
Vitamin A and carotene. In: Goodhart, R.S., Shils, M.E. (Hrsg.):
Modern nutrition in health and disease. 6. Auflage.
Lea & Febiger, Philadelphia, (1980), S. 142-159

262. Verma, A.K., Boutwell, R.K.:
Vitamin A acid (retinoic acid), a potent inhibitor of 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate-induced ornithine decarboxylase activity in mouse epidermis.
Cancer Res. 37, 2196-2201 (1977)

263. Verma, A.K., Rice, H.M., Shapas, B.G., Boutwell, R.K.:
Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced ornithine decarboxylase activity in mouse epidermis by vitamin A analogs (retinoids).
Cancer Res. 38, 793-801 (1978)

264. Verma, A.K., Shapas, B.G., Rice, H.M., Boutwell, R.K.:
Correlation of the inhibition by retinoids of tumor promoter-induced mouse epidermal ornithine decarboxylase activity and of skin tumor promotion.
Cancer Res. 39, 419-424 (1979)

265. Viaje, A., Slaga, T.J., Wigler, M., Weinstein, I.B.:
Effects of anti-inflammatory agents on mouse skin tumor promotion, epidermal DNA synthesis, phorbol ester-induced cellular proliferation, and production of plasminogen activator.
Cancer Res. 37, 1530-1536 (1977)

266. Wagner, A., Plewig, G.:
13-cis-Retinsäure: Pharmakologische und toxikologische Untersuchungen bei der Behandlung schwerster Akneformen.
Münch. med. Wschr. 122 1294-1300 (1980)

267. Wahi, P.N., Kehar, U., Lahiri, B.:
Factors influencing oral and oropharyngeal cancers in India.
Br. J. Cancer 19, 642-660 (1965)

268. Wald, G., Hubbard, R.:
The synthesis of rhodopsin from vitamin A.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 36, 92-102 (1950)

269. Wald, G., Brown, P.K., Smith, P.H.:
Cyanopsin, a new pigment of cone vision.
Science 118, 505-506 (1953)

270. Wald, N., Idle, M., Boreham, J., Bailey, A.:
Low serum-vitamin-A and subsequent risk of cancer. Preliminary results of a prospective study.
Lancet ii (Nr. 8199), 813-815 (1980)

271. Ward, J.M., Sporn, M.B., Wenk, M.L., Smith, J.M., Feeser, D., Dean, R.J.:
Dose response to intrarectal administration of N-methyl-N-nitrosourea and histopathologic evaluation of the effect of two retinoids on colon lesions induced in rats.
J. Natl. Cancer Inst. 60, 1489-1493 (1978)

272. Warnatz, H.:
Moderne Aspekte der Tumorimmunologie.
Med. Welt 29, (1978), 1616-1620

273. Warnatz, H.:
Immunsystem. In: Siegenthaler, W. (Hrsg.):
Klinische Pathophysiologie, 4. Auflage.
Thieme Verlag, Stuttgart (1979), S. 506-546

274. Wassermann, R.H., Corradino, R.A.:
Metabolic role of vitamins A and D.
Annual Review of Biochem. 40, 501-511 (1971)

275. Wattenberg, L.W., Loub, W.D.:
Inhibition of polycyclic aromatic hydrocarbon-induced neoplasia by naturally occuring indoles.
Cancer Res. 38, 1410-1413 (1978)

276. Wattenberg, L.W.:
Inhibitors of carcinogenesis. In: Griffin, A.G., Shaw, C.R. (Hrsg.): Carcinogens: identification and mechanisms of action.
Raven Press, New York (1979), S. 299-316

277. Weber, W., Hartmann, D., Obrecht, J.P.:
Die Bedeutung von Vitamin A und Vitamin-A-Derivaten (Retinoide) in der onkologischen Therapie.
Münch. med. Wschr. 124, 29-31 (1982)

278. Weeks, C.E., Slaga, T.J., Hennings, H., Gleason, G.L., Bracken, W.M.:
Inhibition of phorbol ester-induced tumor promotion in mice by vitamin A analog and anti-inflammatory steroid.
J. Natl. Cancer Inst. 63, 401-406 (1979)

279. Weisburger, J.H., Reddy, B.S., Hill, P., Cohen, L.A., Wynder, E.L., Spingarn, N.E.:
Nutrition and cancer - on the mechanisms bearing on causes of cancer of the colon, breast, prostate, and stomach.
Bulletin of the New York Academy of Medicine 56, 673-696 (1980)

280. Weisburger, J.H.:
Liver cells: carcinogen metabolism and mechanism of action.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 349, 228-231 (1980)

281. Welsch, C.W., Brown, C.K., Goodrich-Smith, M., Van, J., Denenberg, B., Anderson, T.M., Brooks, C.L.:
Inhibition of mammary tumorigenesis in carcinogen-treated Lewis rats by suppression of prolactin secretion.
J. Natl. Cancer Inst. 63, 1211-1214 (1979)

282. Welsch, C.W., Brown, C.K., Goodrich-Smith, M., Chiusano, J., Moon, R.C.:
Synergistic effect of chronic prolactin suppression and retinoid treatment in the prophylaxis of N-methyl-N-nitrosourea-induced mammary tumorigenesis in female Sprague-Dawley rats.
Cancer Res. 40, 3095-3098 (1980)

283. Welsch, C.W., Goodrich-Smith, M., Brown, C.K., Crowe, N.:
Enhancement by retinyl acetate of hormone-induced mammary tumorigenesis in female GR/A mice.
J. Natl. Cancer Inst. 67, 935-938 (1981)

284. Welsch, C.W., Goodrich-Smith, M., Brown, C.K., Macki, D., Johnson, D.:
2-Bromo-α-ergocryptine (CB-154) and Tamoxifen (ICI 46,474) induced suppression of the genesis of mammary carcinomas in female rats treated with 7,12-dimethylbenzanthracene (DMBA): a comparison.
Oncology 39, 88-92 (1982)

285. Wigler, M., Weinstein, I.B.:
Tumour promotor induces plasminogen activator.
Nature 259, 232-233 (1976)

286. Wilson, J.G., Fraser, F.C. (Hrsg.):
Handbook of teratology.
Plenum Press, New York-London (1977-79)

287. Yudkin, J.:
Let them eat bread! But which bread?
Nature 291, 173-174 (1981)

288. Yuspa, S.H., Lichti, U., Ben, T., Patterson, E., Hennings, H., Slaga, T.J., Colburn, N., Kelsey, W.:
Phorbol esters stimulate DNA synthesis and ornithine decarboxylase activity in mouse epidermal cell cultures.
Nature 262, 402-404 (1976)

289. Yuspa, S.H., Elgjo, K., Morse, M.A., Wiebel, F.J.:
Retinyl acetate modulation of cell growth kinetics and carcinogen-cellular interaction in mouse epidermal cell cultures.
Chem. Biol. Interactions 16, 251-264 (1977)

290. Zedeck, M.S., Lipkin, M. (Hrsg.):
Inhibition of tumor induction and development.
Plenum Press, New York-London (1981)

LEBENSLAUF

A. 2. Juni 1957 wurde ich, Ulrich Roos, als Sohn des Textileinzelhändlers Gottlob Roos und seiner Ehefrau Martha Roos, geborene Pfahler, in Esslingen am Neckar geboren.

Von 1964 bis 1967 besuchte ich die Grundschule, von 1967 bis 1976 das Mörike-Gymnasium in Esslingen. Am 20. Mai 1976 bestand ich dort das Abitur.

Im Wintersemester 1976/77 und im Sommersemester 1977 studierte ich Rechtswissenschaft an der Universität Tübingen. Im Oktober 1977 begann ich das Medizinstudium an der Universität des Saarlandes in Homburg/Saar. Nach einem Jahr Studium in Homburg kehrte ich Ende 1978 nach Tübingen zurück.
Am 30. April 1984 beendete ich mein Studium mit dem Staatsexamen.